Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene der
Veterinärmedizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. H.-J. Sinell

Selektivzüchtung von koagulase-positiven Staphylokokken aus Hackfleisch

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
DOKTORS DER VETERINÄRMEDIZIN
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Doris Kusch
Tierärztin aus Berlin

Berlin 1968
Journal-Nr. 605

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene der
Veterinärmedizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. H.-J. Sinell

Selektivzüchtung von koagulase-positiven Staphylokokken aus Hackfleisch

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
DOKTORS DER VETERINÄRMEDIZIN
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Doris Kusch
Tierärztin aus Berlin

Berlin 1968
Journal-Nr. 605

Gedruckt mit Genehmigung
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Prof. Dr. G. Bergmann
Referent:	Prof. Dr. H.-J. Sinell
Korreferent:	Prof. Dr. H. Hartwigk

Tag der mündl. Prüfung: 13. Febr. 1968
Tag der Promotion: 1. April 1968

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A: EINLEITUNG	1
B: SCHRIFTTUM	2
I: Taxonomie und Nomenklatur der Staphylokokken	2
II: Pathogenitätsbestimmungs- und Differenzierungsmethoden, soweit sie im experimentellen Teil berücksichtigt werden	4
a) Koagulasereaktion	4
b) Hämolyse	6
c) Eigelbreaktion	8
d) Fibrinolyse	9
e) Mannitfermentierung	10
f) Telluritresistenz	11
g) Pigmentation	12
h) Antibiotikaresistenz	13
III: Lebensmittelvergiftungen durch Staphylokokken	15
IV: Bakteriologische Untersuchung an Hackfleisch	17
C: EIGENE UNTERSUCHUNGEN	19
I: Material und Methodik	19
a) Untersuchung der Fleischproben	19
b) Nährböden	20
c) Verwendete Stämme	21
d) Pathogenitätsprüfungs- und Differenzierungsmethoden	22
1. Koagulasereaktion	22
2. Bestimmung der Hämolysine	22
3. Fibrinolysinnachweis	23
4. Nachweis der anaeroben Mannitspaltung	23
5. Bestimmung des Antibiogramms	24
e) Statistische Auswertung	24
II: Ergebnisse	26
a) Vorversuch	26
b) Hauptversuche	27
1) Bestimmung der Gesamtkeimzahl, der Zahl der eigelb-positiven und der eigelb-negativen Staphylokokken in Hackfleischproben	27

Seite

2) Differenzierung und Pathogenitätsprüfung der aus dem Hackfleisch isolierten Stämme und der Stämme humanen Ursprungs 39

D: DISKUSSION 44

E: ZUSAMMENFASSUNG 52

F: LITERATURVERZEICHNIS 53

ANHANG: ABBILDUNGEN

A: EINLEITUNG

Lebensmittelintoxikationen durch Staphylokokken wurden früher zu den "Unspezifischen Lebensmittelvergiftungen" gerechnet. Ihren Erregern wurde wenig Beachtung geschenkt. Erst in letzter Zeit gewannen die aus Lebensmitteln isolierten, Enterotoxin bildenden Staphylokokken an Bedeutung und wurden, besonders im Ausland, häufiger beschrieben. Obwohl bisher von keinen Erkrankungen durch Hackfleisch, das größere Mengen Staphylokokken enthielt, in der mir zugänglichen Literatur berichtet wurde, ist bei den besonders günstigen Voraussetzungen, die dieses Lebensmittel für eine Keimbesiedlung bietet, eine stärkere Kontamination mit Staphylokokken zu erwarten.

In der vorliegenden Arbeit sollten koagulase-positive Staphylokokken aus Handelsproben von Schabefleisch, Gehacktem und Hackepeter isoliert und auf das Vorhandensein von Pathogenitätsmerkmalen geprüft werden. Außerdem sollte durch einen Vergleich mit aus Klinikmaterial isolierten Stämmen versucht werden, einen Beitrag zur Epidemiologie der Staphylokokken zu leisten.

B: SCHRIFTTUM

I: Taxonomie und Nomenklatur der Staphylokokken

Die in der Literatur verwendeten Bezeichnungen für die pathogenen Mikrokokken und ihre Abgrenzung von den saprophytisch lebenden Arten sind nicht einheitlich. Schon in der ersten Veröffentlichung von Rosenbach, im Jahre 1884, in der er das Genus Staphylococcus einführt, werden zwei Bezeichnungen verwendet: Im ersten Teil der Arbeit Staphylococcus pyogenes aureus und Staphylococcus pyogenes albus, im zweiten Teil Staphylococcus flavus oder aureus und Staphylococcus albus (zit.n.Cowan 1955). Später geht man davon ab, die Pigmentbildung als Grundlage für eine Einteilung zu benutzen, und die Staphylokokken werden dem Genus Mikrococcus zugeordnet (Rahn 1929). Fairbrother (1940) benutzt die Koagulasebildung als Differenzierungsgrundlage und unterteilt das Genus Staphylococcus in die koagulase-positive Species St.pyogenes und den koagulase-negativen St.saprophyticus.

In neuerer Zeit wird das Genus Staphylococcus in zwei (Bergey 1957, Pohja 1960, Cowan 1962, Cowan & Steel 1964) oder mehr Species bzw. Untergruppen eingeteilt (Shaw et al. 1951, Baird-Parker 1962b, 1963, 1965). Die koagulase-positiven Stämme werden übereinstimmend der Species Staphylococcus aureus zugeordnet. Die Klassifikation der koagulase-negativen Keime ist unterschiedlich, sie werden teils zu den Staphylokokken und teils zu den Mikrokokken gerechnet.
Gewöhnlich werden die Angaben von Breed, Murray & Smith (Bergey's Manual 1957) als Grundlage für die Differenzierung verwendet. Danach sind Angehörige der Familie der Micrococcaceae runde Zellen von 0,5 bis 2 Mikron Durchmesser, die einzeln, paarweise, in Gruppen, unregelmäßigen Haufen oder auch in kurzen Ketten liegen. Sie bilden keine Sporen und verhalten sich bei der Färbung gram-positiv oder gram-labil. Viele Species bilden gelbes, orangefarbenes, rosa oder rotes Pigment. Sie wachsen aerob oder anaerob und treten frei lebend, saprophytisch, parasitär und pathogen auf.
Das Genus Micrococcus wächst nur aerob, spaltet Glucose aerob und ist nie pathogen, während das Genus Staphylococcus fakul-

tativ anaerob wächst und Glucose auch anaerob spaltet. Die Species Staph.aureus ist koagulase-positiv, vergärt Mannit anaerob und ist pathogen. Der Staph.epidermidis ist koagulase-negativ, spaltet Mannit gar nicht oder nur aerob und ist selten pathogen.

II: Pathogenitätsbestimmungs- und Differenzierungsmethoden, soweit sie im experimentellen Teil berücksichtigt werden

a) Koagulasereaktion

Zur Unterscheidung pathogener und apathogener Staphylokokken sind zahlreiche Methoden bekannt, die aber alle keinen absolut sicheren Beweis für die Pathogenität liefern (Lack & Wailing 1954, Obiger 1960, Morrison 1962). Der Nachweis der Koagulase führt immer noch zu den besten Ergebnissen, außerdem stimmt die Koagulaseproduktion weitgehend mit der Enterotoxinbildung überein (Grün 1964a), obwohl nicht alle koagulase-positiven Staphylokokken Enterotoxinbildner sind (Evans & Niven 1950, Mossel 1956), und auch von einer Toxinbildung koagulase-negativer Keime berichtet wird (Flis et al. 1966).
Seit ihrer Einführung in die bakteriologische Diagnostik (Much 1908) ist diese Reaktion mit mehr oder weniger großen Abwandlungen von den verschiedensten Autoren beschrieben worden. Ihr Ausfall wird erheblich von der Herkunft des verwendeten Plasmas beeinflußt. Am häufigsten wird Kaninchenplasma verwendet, entweder frisch oder als Trockenplasma. Einige Autoren bevorzugen jedoch Menschenplasma oder halten beides für gleichwertig (Fairbrother 1940, Fisk 1940, Chapman et al. 1941, Evans & Niven 1950, Roemer & Schmitz 1951, Klatt 1954, Clapper & Wood 1954, Wiidik 1954, Feils 1957, Weiß 1958, Pohja 1960, Meyer & Rische 1960, Grün 1961, Hopton 1961, Jay 1961, Clark et al. 1961, Oehring & Funk 1961, Morrison 1962, Solomon & San Clemente 1963, Baird-Parker 1963, Fraser 1964, Abo-Elnaga & Kandler 1965, Zemelman & Longeri 1965, Meyer, W. 1966a, Pulverer 1966, Pulverer 1967). In Fällen, in denen Tierstämme untersucht werden, ist dem Kaninchenplasma der Vorzug zu geben, da es ein breiteres Wirkungsspektrum hat (Fraser 1964, Pulverer & Entel 1967). Das Plasma von Pferd, Rind, Schaf, Schwein, Hund und Huhn ergibt eine größere Anzahl falscher negativer Ergebnisse (Fraser 1964, Klatt 1964, Meyer, W. 1966). Einige Untersucher verwenden jedoch auch Schweine- oder Schafplasma (Fink 1961, Kielwein 1960, Messer 1961, Worseck & Fiebig 1965). Mit Vollblut läßt sich die Reaktion ebenfalls durchführen (Daranyi 1955, Meyer & Rische 1960, Fink 1961).

Die Wahl des gerinnungshemmenden Mittels ist von geringerer Bedeutung für den Ausfall der Reaktion. Es sind Natriumcitrat und -oxalat sowie Heparin in Gebrauch. Bei Verwendung von Oxalat soll die Ablesung etwas schwieriger als bei Citrat- oder Heparinplasma sein (Jedličkovà-Beštaková 1960). Citrat kann bei verunreinigten Kulturen durch andere Bakterien zerstört werden und dadurch falsche positive Ergebnisse hervorrufen (Morrison 1962).

Die Menge des Antikoagulans hat ebenfalls wenig Einfluß auf den Ausfall der Reaktion (Fisk 1940, Möse 1950), bei größeren Mengen kann ein positives Ergebnis etwas später sichtbar werden (Chapman et al. 1941). Da im Plasma häufig Koagulaseinhibitoren enthalten sind, wird durch eine Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung von 1:4 bis 1:10 die Wirkung dieser Hemmungskörper vermindert (Chapman et al. 1941, Lominski & Roberts 1946, Bekker 1947, Clapper & Wood 1954, Grün 1964). Wichtig ist auch, daß die verwendeten Kulturen und das Plasma möglichst frisch sind, da die Koagulaseproduktion bei der Lagerung der Stämme zurückgeht (Fairbrother 1940, Chapman et al. 1941, Klatt 1954, Steward & Kelley 1959). Die Ablesung muß während der Bebrütung bei 37°C häufig erfolgen, da bei einer starken Fibrinolysinproduktion das Koagulum schnell wieder aufgelöst wird (Otte & Walter 1955, Baird-Parker 1965).

Das Wesen der Koagulase ist nicht vollständig geklärt. Es sind Zweifel an ihrer Fermentnatur aufgetreten, da sie sich als hitzebeständig und säure- und alkalifest erwiesen hat (Otte & Walter 1955). Um eine Plasmagerinnung hervorzurufen, benötigt sie einen im Serum enthaltenen Aktivator (Morrison 1962). Obwohl auch schon eine Koagulasereaktion in gereinigten Fibrinogenlösungen beschrieben wurde (Steward & Kelley 1959), ist die Mehrzahl der Forscher doch der Ansicht, daß die Wirkung der Koagulase an das Vorhandensein von Prothrombin oder Thrombin gebunden ist (Much 1908, Möse & Laurentschitsch 1950, Elek 1959). Möglicherweise stellt sie ein Co-ferment dar, das sich mit einem Eiweißkörper zu einem Holo-ferment verbindet (Otte & Walter 1955).

Neben der erst nach längerer Bebrütung auftretenden Gerinnung des Plasmas verursachen die meisten Staphylokokken beim Einreiben in einen Plasmatropfen innerhalb weniger Sekunden eine grobe Flockung (Birch-Hirschfeld 1934), die als Plasmaagglutination bezeichnet wird. Sie läuft nicht vollständig mit der Koagulasereaktion parallel (Roemer & Schmitz 1951, Grün 1961) und wird nach Meinung einiger Autoren von der sogenannten gebundenen Koagulase verursacht, im Gegensatz zu der freien, die die eigentliche Koagulasereaktion bewirkt (Duthie 1954, Kielwein 1959). Andere meinen, daß beide Vorgänge durch denselben Stoff verursacht werden (Otte & Walter 1955).
Obwohl bekannt ist, daß die Koagulase im Organismus Antikörper erzeugen kann (Rammelkamp et al. 1950, Lominski et al. 1962), besteht im übrigen über ihre Rolle bei der Infektion noch Unsicherheit. Sie dient wahrscheinlich dem Schutz der Bakterien vor der Abwahrreaktion des Wirtskörpers (Daranyi 1955, Ekstedt & Yotis 1960, Blair 1962). Es wird aber auch die Möglichkeit der intravasalen Thrombenbildung in Betracht gezogen (Smith, W. et al. 1947).

b) Hämolyse

Neben der Koagulasereaktion wird auch der Nachweis der Hämolyse häufig als Pathogenitätstest verwendet. Er ist besonders in der Routinediagnostik beliebt, da er wenig Aufwand erfordert. Seine Übereinstimmung mit der Koagulasereaktion wird mit 70% bis 94% angegeben (Marks 1952, Schaack 1955, Weiß 1958, Weinhold 1959, Grün 1961, Philipp 1965). Es hämolysieren allerdings auch koagulase-negative Staphylokokken (Millian et al. 1960, Angyal 1961, Grün 1961).
Die staphylogene Hämolyse wird von verschiedenen Toxinen verursacht, von denen das α-Toxin am längsten bekannt ist. Es löst Erythrozyten von Schaf und Kaninchen aber keine von Mensch oder Pferd und ist bei pathogenen Humanstämmen häufig (Gillespie et al. 1939, Elek & Levy 1950, Hinton & Orr 1957). Einen auffällig hohen α-Toxin-Titer sollen die Stämme haben, die direkt aus Krankheitsprozessen isoliert wurden (Jessen et al. 1959a), was von anderen Autoren aber

nicht bestätigt werden konnte (Schmidt & Spitzbart 1963). Die α -Toxinbildung wird durch eine Bebrütung in 10 - 30%iger CO_2-Atmosphäre gefördert (Elek & Levy 1950, Oehring & Funk 1961). Sie ist bei Tierstämmen in geringerem Maße als bei Humanstämmen festzustellen (Smith, H.W. 1947, White & Mc Donald 1961, Philipp 1965). Die Feststellung, daß sich das α -Toxin in zwei Fraktionen aufteile (Morgan & Graydon 1936), konnte nicht aufrecht erhalten werden (Elek 1959).

Das 1935 entdeckte β-Toxin löst keine Kaninchen-, Pferde- oder Menschenerythrozyten. Bei Schaferythrozyten bewirkt es die sogenannte "hot-cold-Lysis", bei der nach der Bebrütung um die Kolonie eine verfärbte Zone auftritt, die erst nach mehrstündigem Kühlschrankaufenthalt vollständig klar wird (Glenny & Stewens 1935, Poscich 1957, Kielwein 1960). Das β-Toxin hemmt die Wirkung des α -Toxins und verstärkt die Hämolyse der B-Streptokokken. Im CAMP-Test wird diese Erscheinung zum Nachweis des Strept.agalactiae ausgenutzt (Christie et al. 1944, Munch-Petersen & Christie 1947, Guthof 1961, Worseck & Fiebig 1965). Sie kann umgekehrt auch das Vorhandensein von β-Toxin beweisen (Zemelman & Longeri 1965). Die β-Hämolyse tritt häufiger bei Tier- als bei Humanstämmen auf (Bryce & Rountree 1936, Smith, H.W. 1947, Elek & Levy 1950, Wurter & Galton 1962, St. George et al. 1962, Pulverer 1963, Pulverer & Entel 1967, Marcia et al. 1967). Eine reine β-Hämolyse ist jedoch auch bei Stämmen, die von Tieren stammen selten (Wiidik 1954, White & Mc Donald 1961). Es wird aber auch von höheren Prozentsätzen β-hämolysierender Humanstämme, besonders aus Klinikmaterial, berichtet (Christie & North 1941, Hinton & Orr 1957, Pulverer 1966). Unter den Stämmen, die von Hunden isoliert wurden, sollen auch koagulase-negative eine β-Hämolyse verursachen (Fraser 1964).
Von einigen Autoren wurde ein γ-Toxin beschrieben (Smith, M.L. & Price 1938). Seit 1947 ist das δ-Toxin bekannt, das mit dem γ-Toxin identisch zu sein scheint (Elek & Levy 1950, Marks 1952). Es löst Erythrozyten von Kaninchen, Schaf, Pferd und Mensch. Seine Wirkung wird durch das β-Toxin verstärkt (Williams & Harper 1947, Marks & Wougham 1950, Worseck & Fiebig 1965). Häufig tritt es zusammen mit dem α-Toxin auf (Elek &

Levy 1950, Lack & Wailling 1954).
Bei koagulase-negativen Staphylokokken wurde nicht selten ebenfalls eine Hämolyse festgestellt, die nach einigen Untersuchern auf ein ε-Toxin zurückzuführen ist (Elek & Levy 1950, Fraser 1964, Abo-Elnaga & Kandler 1965, Meyer, W. 1966 b, Edwards & Jones 1966), das andere für mit dem δ-Toxin identisch halten (Marks & Vougham 1950, Marks 1952, Smith, J.E. 1962).
Die einzelnen Hämolyseformen können in allen möglichen sieben Kombinationen auftreten. Ihr Nachweis erfolgt auf Blutplatten von verschiedenen Tierarten, in einer CO_2-Atmosphäre und meist mit Hilfe von spezifischen Antitoxinen (Elek & Levy 1950, Messer 1961). Er kann auch im Röhrchen vorgenommen werden (Williams & Harper 1947), liefert dort aber keine so sicheren Ergebnisse (Gillespie & Simpson 1948, Elek & Levy 1954, Poscich 1957).
Die Enterotoxinbildung ist mit keiner bestimmten Hämolyseform gekoppelt, es wurde sogar bei anhämolytischen Stämmen eine Enterotoxinproduktion nachgewiesen (Flis et al. 1966).

c) Eigelbreaktion

Die Eigelbreaktion der Staphylokokken wird im Gegensatz zu der gleichen Reaktion bei Pilzen (Böttcher 1960) und anderen Bakterien (Shah & Wilson 1963, Grün 1964a) nicht durch eine Lecithinase sondern durch eine Lipase verursacht (Gillespie & Alder 1952, Klinge 1957, Shah & Wilson 1963, 1965).
Die Reaktion kann im flüssigen Medium oder auf festen Nährböden, die meist als Selektivmedien entwickelt wurden, durchgeführt werden (Gillespie & Alder 1952, Alder et al. 1953, Jessen et al. 1959a, Parker 1958, Schmidt 1962, Carter 1960, Innes 1960, Grün 1961, Hopton 1961, Baird-Parker 1962a, Crisley et al. 1964, Meyer, W. 1966b). Der empfindlichere Röhrchentest hat den Nachteil, daß eine Reaktion erst nach drei bis zehn Tagen abgelesen werden kann (Gillespie & Alder 1952, Pulverer 1963), während die Plattenmethode schon nach 24 bis 48 Stunden ein Ergebnis liefert.
Eine Übereinstimmung mit der Koagulasereaktion besteht nicht immer. Unter den koagulase-positiven Staphylokokken wurden 76,2% bis 87% eigelb-positive Stämme gefunden (Gillespie & Alder 1952, Alder et al. 1953, Hopton 1961, Meyer, W. 1966b,

Pulverer 1966), jedoch gibt es auch bei den koagulase-negativen Keimen eigelbpositive (Grün 1961, Abo-Elnaga & Kandler 1965).

Bei Stämmen, die direkt aus krankhaften Prozessen isoliert wurden, soll der Anteil der eigelb-positiven höher liegen (Alder et al. 1953), was für Furunkulosestämme bestätigt werden konnte (Jessen et al. 1959a), nicht aber für Krankenhausstämme anderen Ursprungs (Alder et al. 1955).
Ein negativer Ausfall der Eigelbreaktion besagt also nicht in jedem Fall, daß der Stamm apathogen ist (Alder et al. 1953). Die Mortalität bei Infektionen mit eigelb-negativen Staphylokokken liegt sogar höher als bei Erkrankungen, die durch eigelbpositive verursacht wurden (Jessen et al. 1959b). Diese Erscheinung hat ihre Ursache wahrscheinlich in dem häufigen Auftreten eigelb-negativer Staphylokokken unter den penicillinresistenten Stämmen (Gillespie & Alder 1952, Parker 1958, Jessen et al. 1959b, Meyer, W. & Rische 1960). Eine Enterotoxinbildung wurde auch bei eigelb-negativen Staphylokokken nachgewiesen (Carter 1960).
Die pathogenen Tierstaphylokokken sind überwiegend eigelbnegativ (Alder et al. 1953, Wurter & Galton 1962, Pulverer 1963, Meyer, W. 1966b, Pulverer & Entel 1967). Es wurde jedoch auch schon ein größerer Anteil eigelb-positiver Keime bei Rindermastitisstämmen nachgewiesen (Schultze 1967).

d) Fibrinolyse

Die Fibrinolysereaktion wird in der Staphylokokkendiagnostik seltener verwandt, da sie auf der Platte schwierig abzulesen ist (Kaffka 1957), und ihr negativer Ausfall keinen Beweis für das Vorliegen eines apathogenen Stammes darstellt. Sie ist aber gut geeignet, innerhalb der pathogenen Staphylokokken Stämme zu differenzieren und besonders die tierpathogenen von den menschenpathogenen zu trennen (Grün 1961, Pulverer 1966).

Das Fibrinolysin ist eine Substanz mit antigenen Eigenschaften und läßt sich mit Hilfe der unterschiedlichen Hitzestabilität von der Koagulase trennen (Madison 1935/36, Christie et al. 1945, Gerheim 1948). Möglicherweise wirkt es nicht direkt auf das Plasma, sondern stellt nur einen Aktivator für im Plasma enthaltene Enzyme dar (Lack 1948). Die anfangs geäußerte Vermutung, daß seine Wirkung eine rein physikalische sei (Birch-

Hirschfeld 1934), wurde später in Zweifel gezogen, da hitzepräzipitiertes, durch Staphylokokken gelöstes Fibrin nicht wieder durch Erhitzen ausgefällt werden konnte (Christie et al. 1945).

β-Toxinbildner bilden gewöhnlich kein Fibrinolysin (Rountree 1947, Christie & Wilson 1941). Die Fibrinolyse wird jedoch durch Zugabe von reinem β-Toxin nicht gehemmt (Rountree 1947), und es wurden auch schon fibrinolysin-positive, β-hämolysierende Staphylokokken nachgewiesen (Laurell & Toth-Gyulai 1961). Seltener fibrinolysin-positiv sollen auch eigelb-positive Stämme sein (Tomlinson & Parker 1956).
Die Angaben über die Zahl der Fibrinolysinbildner unter den Staphylokokken des Menschen schwanken zwischen 70% und 94% (Anderson 1956, Kaffka 1957). Ihr Anteil bei den Tierstaphylokokken liegt unter 50% (Christie et al. 1946, Elek & Levy 1950, St. George et al. 1962, Pulverer 1963, 1966), was mit dem häufigen Auftreten der β-Hämolyse zusammenhängt (Christie & Wilson 1941, Smith, H.W. 1947). Bei den koagulase-negativen Staphylokokken wurden keine fibrinolysierenden Stämme gefunden (Fisher 1936, Smith, H.W. 1947, Grün 1961).
Bei der Durchführung der Reaktion wird seltener der Röhrchentest (Tillet & Garner 1933) als der weniger aufwendige Plattentest (Christie & Wilson 1941, Chapman 1942) angewandt. Wobei das von einigen Autoren verwendete Kaninchenplasma seltener positive Ergebnisse liefert als das häufiger benutzte Menschen- oder Pferdeplasma (Christie & Wilson 1941, Chapman 1942, Tomlinson & Parker 1956, Grün 1961, Smith, J.E. 1962, Abo-Elnaga & Kandler 1965).

e) Mannitfermentierung

Das d-Mannit, ein zuckerartiger 6-wertiger Alkohol, findet in Selektivnährböden zur Differentialdiagnose von Staphylokokken häufig Verwendung (Chapman 1945, 1946, Sinell & Baumgart 1965, Schaack 1955). Zwischen 90% und 96% der pathogenen aber auch ein Teil der apathogenen Staphylokokken (Epstein 1934, Gillespie et al. 1939, Roemer & Schmitz 1951, Schaack 1955, Pöhn 1958, Weiß 1958, Weinhold 1959, Jeffries 1961, Philip 1965, Zemelman & Longeri 1965, Edwards & Jones 1966) können diese Substanz enzymatisch spalten, wobei als Endprodukt Säure

entsteht, die durch Indikatoren, wie Phenolrot (Chapman 1945), Bromkresolpurpur (Roemer & Schmitz 1951), Bromthymolblau (Kielwein 1960, Kienitz 1962), Lackmus (Messer 1961), Wasserblau (Pulverer 1963) oder Chinablau (Sinell & Baumgart 1965) nachgewiesen werden kann.
Wegen des von einigen Untersuchern festgestellten extrem hohen Anteils an mannitspaltenden Keimen unter den apathogenen Staphylokokken, es wird von 70% und sogar von 100% berichtet (Evans 1948, Weinhold 1959), wird diese Reaktion als Pathogenitätsmerkmal häufig ganz abgelehnt (Fairbrother 1940, Smith, H.W. 1947, Feils 1957, Kaffka 1957). Andere Autoren berichten dagegen von einer guten Übereinstimmung mit der Pathogenität (Klatt 1954, Jessen et al. 1959a, Hoffman 1961, Rittmeyer 1964, Worseck & Fiebig 1965).
Die Fähigkeit, Mannit anaerob zu spalten, sollen nur die pathogenen Staphylokokken besitzen (Evans 1947, 1948), was jedoch teilweise bestritten wird (Grün 1964b). Einige Autoren benutzen die anaerobe Mannitspaltung als Grundlage für die Systematik der Staphylokokken (Baird-Parker 1962, 1963, 1965; Cowan & Steel 1964). Gegenüber der aeroben Mannitreaktion, bei der die Endablesung des Versuches im Röhrchen meist nach drei Tagen erfolgt, liegt das Endergebnis bei der anaeroben Bebrütung erst nach zehn Tagen vor (Kielwein 1960, Fink 1961, Kienitz 1962, Baird-Parker 1963, Pulverer 1963). Der Prozentsatz der koagulasepositiven Staphylokokken, die bei dieser Methode eine positive Mannitreaktion zeigen, liegt jedoch niedriger als bei der aeroben Bebrütung (Pulverer 1963, Pulverer & Entel 1967).

f) Telluritresistenz

Die Resistenz der koagulase-positiven Staphylokokken gegenüber Tellurit und ihre Fähigkeit, es zu metallischem Tellur zu reduzieren, wird ebenfalls bei der Herstellung von Selektivnährböden benutzt. Diese finden häufig bei der Isolierung von Keimen aus Lebensmitteln Verwendung (Jay 1961, 1962a, Donnelly et al. 1964, Crisley et al. 1965, Basille et al. 1965).
Seit der ersten Verwendung eines Telluritzusatzes in einem Nährboden (Ludlam 1949), sind verschiedene solcher Medien beschrieben worden (Zebowitz et al. 1955, Innes 1960, Baird-

Parker 1962a, Crisley et al. 1964). Auf diesen Platten wachsen koagulase-positive Staphylokokken in typischen schwarzen Kolonien, während koagulase-negative entweder völlig gehemmt werden sollen oder in kleinen farblosen Kolonien wachsen (Marwin 1958, Innes 1960).
Die Telluritresistenz, die bei etwa 95% der koagulase-positiven Staphylokokken auftritt (Pulverer 1963), wird also ebenfalls als Pathogenitätsmerkmal gewertet (Hoeprich et al. 1960, Schaub & Merrit 1960, Burns & Holtman 1960, Pulverer 1966), obwohl auch koagulase-negative Staphylokokken diese Eigenschaft haben können (Jeffries 1961).

g) Pigmentation

Die Pigmentproduktion, die von den ersten Untersuchern als wesentlichstes Pathogenitätsmerkmal angesehen wurde, wird heute geringer bewertet, da sich erwiesen hat, daß sie eine recht variable Eigenschaft ist und von der Zusammensetzung der Atmosphäre, der Temperatur, dem Lichtzutritt und der Art des Nährbodens abhängt (Grün 1961). Am günstigsten für die Pigmentbildung ist eine Bebrütung bei 37°C, bei Sauerstoff- und Tageslichtzutritt (Steuer 1956, 1957). Gefördert wird die Ausbildung des Pigments durch eine Anzüchtung auf milch- oder eigelbhaltigen Nährböden (Christie et al. 1946, Anderson 1956, Grün 1961, Zemelman & Longeri 1961).
Junge Kolonien wachsen meist farblos und pigmentierte Stämme können sich ohne Veränderung ihrer übrigen Eigenschaften in pigmentierte und unpigmentierte Kolonien aufspalten (Wiidik 1954, Steuer 1956). Bei Stämmen, die unter der Einwirkung von Antibiotika stehen, kann es ebenfalls zu einer Veränderung der Farbe kommen. Antibiotikaresistente Stämme sollen die Fähigkeit, Pigment zu bilden ebenso verlieren, wie Stämme, die mehrere Monate auf Schrägagar gehalten wurden (Graessle & Frost 1946, Barber 1955, Grün 1958, Kienitz 1962).
Aus diesen Gründen halten viele Autoren die Pigmentation als Pathogenitätskriterium für ungeeignet (Rahn 1929, Fairbrother 1940, Anderson 1956, Brack 1960, Fink 1961, St. George et al. 1962). Andere Untersucher berichten von guter Übereinstimmung mit der Pathogenität (Feils 1957, Millian et al. 1960, Rittmeyer 1964, Abo-Elnaga & Kandler 1965).

Mit wenigen Ausnahmen (Schaack 1955) wurde bei über 90% der koagulase-positiven Humanstämme eine Pigmentbildung festgestellt (Wiidik 1954, Weinhold 1959, Messer 1961, Grün 1961), während bei pathogenen Tierstaphylokokken nur 44,4% bis 74% pigmentierte Stämme gefunden wurden (Weinhold 1959, Pulverer 1963). Eine Enterotoxinbildung konnte auch bei unpigmentierten Stämmen nachgewiesen werden (Worseck 1956, Clark et al. 1961, Flis et al. 1966). Besonders häufig sind koagulase-positive Staphylokokken vom Hund unpigmentiert (Fraser 1964, Pulverer & Entel 1967). Auffällig ist jedoch der hohe Anteil pigmentierter Stämme bei den koagulase-negativen Staphylokokken von Mensch und Tier (Roemer & Schmitz 1951, Messer 1961, Zemelman & Longeri 1961, Edwards & Jones 1966).

h) Antibiotikaresistenz

Zur Charakterisierung der Staphylokokken kann auch ihre Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika benutzt werden (Grün 1961, Schmidt 1962). Die Resistenz gegenüber Antibiotika ist bei Stämmen aus Kliniken besonders hoch, und Klinikpersonal und -patienten sind häufiger Träger resistenter Keime als die übrige Bevölkerung (Linzenmeyer 1956a, Kikuth & Grün 1957, Fischer 1959, Bauer et al. 1960, Pulverer 1963, Page 1962). In vielen Krankenhäusern wurde auch ein resistenter Hauskeim nachgewiesen (Gillespie & Alder 1957, Schmidt & Spitzbart 1963).

Am häufigsten ist die Resistenz gegen Penicillin (Jessen et al. 1959a, Oehring & Funk 1961, Pulverer 1963), die sich auch verhältnismäßig leicht künstlich erzeugen läßt (Graessle & Frost 1946). Es zeigte sich bei der Überprüfung alter Sammlungsstämme, daß schon vor der Penicillin-Ära penicillinresistente Stämme existierten, und daß andere Stämme, die nicht mit Penicillin in Berührung gekommen sein konnten, resistent waren (Parker 1958, Munch-Petersen & Boundy 1962). Man nimmt daher an, daß einmal resistente Varianten, die in der Lage sind, eine Penicillinase zu bilden, schon in der Ausgangspopulation vorhanden waren und durch die Penicillintherapie nur selektiert werden, und daß zum anderen eine Bildung resistenter Mutanten stattfindet (Barber & Burston 1955, Meyer, W. 1962, Kirby 1944, Barber 1947, Jacherts 1961).

Die Penicillinresistenzquote ist seit Beginn der Therapie laufend gestiegen, scheint aber nun ein Gleichgewicht von 60% - 80 % erreicht zu haben (Rountree & Thomson 1952, Munch-Petersen & Boundy 1962). Die Resistenz gegenüber den anderen Antibiotika ist geringer als die Penicillinresistenz, nur eine Streptomycinresistenz tritt ebenfalls nicht selten auf (Munch-Petersen & Boundy 1962, St. George et al. 1962). Unter den häufiger verwendeten Antibiotika ist eine Resistenz gegen Chloramphenicol noch am seltensten (Peter 1960, Bauer et al. 1960). In vielen Fällen findet man jedoch Stämme, die gegen mehrere Antibiotika unempfindlich sind (Linzenmeyer 1956á, Grün 1961, Oehring & Funk 1961, Wallace et al. 1962, Solomon & San Clemente 1963, Willis et al. 1964).

Bei Staphylokokken, die vom Tier stammen, ist die Antibiotikaresistenz im allgemeinen geringer (Mann 1960, Clark et al. 1961, Smith, J.E. 1962, Pulverer 1966), eine Ausnahme können jedoch Mastitisstämme vom Rind machen (White & Mc Donald 1961). Häufiger soll auch eine Resistenz nur gegen Tetracycline bei Tierstämmen auftreten, was bei Humanstämmen sehr selten ist (Pulverer 1966).

Die Prüfung der Antibiotikaempfindlichkeit erfolgt entweder quantitativ im Röhrchen (Ortel 1955, Mann 1960, Smith, H.W. 1954b, Kienitz 1962) oder auf der Platte, wobei nur die Aussage "resistent" oder "empfindlich" gemacht werden kann (Linzenmeyer 1959). Für den Plattentest werden heute mit Antibiotikalösung getränkte Filterpapierblättchen verwendet, die es ermöglichen, verschiedene Stoffe auf einer Platte zu testen (Linzenmeyer 1956b, Jessen et al. 1959a, Grün 1961, Milch et al. 1961, Page 1962).

Die Literatur über weitere Differenzierungsmethoden einschließlich der Serologie und der Phagentypisierung, findet sich bei

L. Grün "Staphylokokken in Klinik und Praxis"
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart
1964
und
G. Pulverer "Pathogene Staphylokokken bei Mensch und Tier sowie im Freiland"
Habilitationsschrift, Köln 1963.

III: Lebensmittelvergiftungen durch Staphylokokken

Staphylokokken verursachen neben Eiterungen auch enterale Infektionen, die bei Kindern und alten oder stark geschwächten Personen einen tödlichen Ausgang nehmen können. In der Humanmedizin sind sie gefürchtet, da sich in Kliniken nach längerer Anwendung von Antibiotika therapieresistente Stämme ansiedeln können, die den sogenannten "Staphylokokkenhospitalismus" verursachen (Kikuth & Grün 1957, Gillespie & Alder 1957, Jacherts 1961, Schmidt & Spitzbart 1963).

Für die Veterinärmedizin ist die Lebensmittelvergiftung durch Staphylokokken von Bedeutung, da sie fast immer nach dem Genuß von Speisen, die vom Tier stammen und daher der tierärztlichen Überwachung unterliegen, auftritt. Sie wird durch enterotoxinbildende Staphylokokkenstämme verursacht (Dack 1962, Galton & Steele 1961) und kommt wegen der meist nur kurz anhaltenden Krankheitserscheinungen häufig gar nicht zur Kenntnis des Arztes. Die bekannt gewordenen Fälle machen aber bereits einen beachtlichen Teil der jährlich registrierten bakteriellen Lebensmittelintoxikationen aus (Feig 1950, Meyer, K.F. 1953). Klinische Erscheinungen können nach dem Genuß eines Nahrungsmittels auftreten, das über 10^6 Keime/g enthält (Hobbs 1955). Nach einer Inkubationszeit von 1 - 5 Stunden treten Übelkeit, Speichelfluß, Erbrechen, kolikartige Leibschmerzen und Durchfälle auf. Häufig stellen sich auch Störungen im Kreislaufsystem ein, die bis zum Kollaps führen können. Die Patienten haben kein Fieber, und die Krankheitserscheinungen verschwinden in der Regel spätestens nach 24 Stunden (Brack 1960, Dack 1962, Grün 1964a, Schönberg 1962).

Staphylokokkenintoxikationen können von den verschiedensten Lebensmitteln ihren Ausgang nehmen (Evans & Niven 1950). Häufig sind Milch oder Milchprodukte, wie Speiseeis, Käse und Cremefüllungen beteiligt. Aber auch Fisch, Fleisch- und Wurstwaren haben Staphylokokkenintoxikationen verursacht (Crabtree & Litterer 1934, Bransfield 1937, Pikkarainen 1938, Weed et al. 1943, Lütje 1951, Moser 1953, Moser & Mumme 1954, Legler et al. 1957, Ortel 1958, Kendereszi 1959, Hammer 1957, Seidel et al. 1962, White et al. 1964, Casman & Bennet 1965).

Als Infektionsquellen wurden neben der Milch mastitiskranker Tiere (Weed et al. 1943, Hammer 1957) häufig menschliche Keimträger ermittelt (Bransfield 1937, Ortel 1958, Kendereszi 1959). Begünstigt wurde die Keimvermehrung durch langsames Abkühlenlassen ungenügend erhitzter Speisen und Aufbewahren bei Zimmertemperatur (Deminson 1936, Kendereszi 1959, Seidel et al. 1962).

IV: Bakteriologische Untersuchungen an Hackfleisch

Auf Grund seines hohen Feuchtigkeitsgehaltes, der durch den Austritt von Fleischsaft bei der Zerkleinerung verursacht wird, seiner guten Durchlüftung und seines verhältnismäßig hohen pH-Wertes, bietet dieses Lebensmittel vielen Keimen einen hervorragenden Nährboden. Dazu kommt, daß die Sitte des Rohverzehrens von Hackfleisch die Gefahr einer Gesundheitsschädigung, besonders durch Fleischvergifterbakterien, vergrößert, da die zumindest teilweise Keimabtötung durch die Zubereitung wegfällt. Aus diesen Gründen wurde der Verkehr mit Hackfleisch gesetzlich geregelt (Hackfleischverordnung vom 24.7.1936 RGBl. I S. 175 und vom 16.7.1965 BGBl. I Nr. 31 S. 619).
Vor Erlaß der Hackfleischverordnung traten häufiger Lebensmittelvergiftungen nach dem Genuß von Hackfleisch auf, als das später der Fall war (Kuppelmeyer 1924, Meyer, R. 1935, 1939, 1940/41, 1942, 1948, Farchmin 1950).
In den Arbeiten, die sich mit der Bakteriologie des Hackfleisches beschäftigen, sind die Angaben über die Gesamtkeimzahl schwankend, was zum Teil auf unterschiedliche Untersuchungsmethoden zurückzuführen ist (Nußbaumer 1956, Hempel 1963, Bartels et al. 1964, Ghoneim 1964, Nieper 1964, Kruse 1964, Stehle 1964, Kraus & Streichan 1964, Hess & Lott 1965, Lott 1966). Der niedrigste Wert liegt bei 5000 (Kraus & Streichan 1964), der höchste bei 2.955 Mill. (Ghoneim 1964). Im Durchschnitt liegen die Werte zwischen 1 und 10 Millionen. Es wird über Funde von Salmonellen (Nieder 1925, Bischoff 1956, Kampelmacher et al. 1961, Winkle & Rohde 1964), aeroben Sporenbildnern (Schönberg 1961, Nieper 1964), Keimen der Proteusgruppe (Klink 1950, Lorenzen 1960, Hempel 1963) und Pseudomonasarten (Hultsch 1962, Schönberg & Könekamp 1962, Lott 1966) berichtet.
Den Staphylokokken im Hackfleisch wurde bisher weniger Beachtung geschenkt. Hoffmann fand 1963 in 21 von 67 untersuchten Schabe- und Hackfleischproben koagulase-positive Staphylokokken. Ghoneim (1964) fand in 32% seiner Hackfleischproben Keime, die er auf Grund ihrer Morphologie als Staphylokokken ansah.
In den USA fand Jay (1962a) bei seinen Untersuchungen an vorverpackten, geformten Hackfleischerzeugnissen (Hamburger, Pork

chops, Round beef steak, veal steak) in 25% bis 39% der Proben Staphylokokken. Auf Grund der Lysotypie und des Hämolysemusters sah er Mensch und Tier gleicherweise als Ursprung der Kontamination an (Jay 1961, 1962a, 1962b).

C: EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I: Material und Methodik

a) Untersuchung der Fleischproben

Es wurden 57 Proben Schabefleisch, 59 Proben Gehacktes und 53 Proben Hackepeter untersucht. Davon stammten 46 Proben Schabefleisch, 41 Proben Gehacktes und 45 Proben Hackepeter aus Fleischereien und Filialbetrieben. 4 Proben Schabefleisch, 4 Proben Gehacktes und 6 Proben Hackepeter waren vorverpackt. 7 Proben Schabefleisch, 14 Proben Gehacktes und 2 Proben Hackepeter wurden in tiefgefrorenem Zustand gekauft. Das Gehackte bestand nur aus Rindfleisch, der Hackepeter enthielt nur Schweinefleisch. Das Fleisch wurde in der Zeit von Januar bis September 1966 in verschiedenen Berliner Geschäften erworben. In der Regel wurde in jedem Laden eine Probe von jeder Fleischsorte im Gewicht von 65 oder 100 g gekauft. Die vorverpackten und tiefgefrorenen Produkte hatten ein Gewicht von 125 oder 250 g. Es wurden kleine Betriebe bevorzugt, da dort unter Umständen durch geringeren Umsatz und mangelhafte Kühleinrichtungen günstigere Bedingungen für eine Keimbesiedlung vermutet wurden. Das Fleisch wurde 1 bis 1 1/2 Stunden nach dem Einkauf untersucht. Aus der Mitte der Probe wurden 5 g für die bakteriologische Untersuchung unter möglichst sterilen Bedingungen in Homogenisiergefäße eingewogen. In dem Rest der Probe wurde der pH-Wert elektrometrisch bestimmt.

Zur Keimzahlbestimmung wurden 5 g Material mit 45 ml Verdünnungsflüssigkeit (physiologische Kochsalzlösung mit 0,1% Caseinpepton) mit dem Ultra-Turrax bei 24 000 U/min 40 Sekunden homogenisiert und davon weitere Verdünnungen in Zehnerpotenzen hergestellt. Von jeder Verdünnung wurden 0,1 ml auf Nähragar und den Selektivmedien ausgespatelt. Die beimpften Platten wurden 48 Stunden bei 37°C bebrütet.

Es wurden alle Platten, auf denen zwischen 30 und 300 Kolonien gewachsen waren, ausgezählt. Konnten mehrere Platten berücksichtigt werden, so wurde das arithmetische Mittel gebildet.

b) Nährböden

Bei den nachstehenden Untersuchungen wurden folgende Nährböden verwendet:
Zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl wurde Nähragar benutzt. Als Selektivmedien kamen zwei Nährböden, auf denen koagulase-positive Staphylokokken durch die Eigelbreaktion und die Tellurit-reduktion erkennbar sind, ein die aerobe Mannitspaltung und ein die Eigelbreaktion und die Pigmentbildung als Pathogenitäts-merkmal benutzendes Medium, zur Verwendung. Im Vorversuch wurden der Eigelb-Tellurit-Glycin-Pyruvat-Agar (ETGPA, Baird-Parker 1962), der Tellurit-Polymyxin-Eigelb-Agar (TPEY, Crisley et al. 1964) und der Kaliumrhodanid-Actidione-Natriumazid-Agar (KRAN, Sinell & Baumgart 1965) auf ihre Eignung zur Selektivzüchtung von Staphylokokken geprüft.
Im Hauptversuch wurden der TPEY-Agar und der KRAN-Agar statt mit Mannit mit Eigelb- und Pyruvatzusatz (KRANEP, Sinell & Baumgart 1967) verwendet. Der KRANEP-Agar hat den Vorteil, daß auf ihm auch die Zahl der Mikrokokken und koagulase-negativen Staphylokokken bestimmt werden kann, da diese nicht gehemmt werden und leicht von den Streptokokken zu unterscheiden sind. Auf beiden Nährböden wurde die Eigelbreaktion der isolierten Stämme nach 48-stündiger Bebrütung nachgeprüft. Eine Platte wurde mit bis zu 12 Stämmen beimpft. War die Trübung um den Impfstrich nicht kräftig und scharf abgesetzt, so wurde die Reaktion mit ± bezeichnet. Die Pigmentbildung der Stämme wurde auf dem KRANEP-Agar nach weiteren 24 Stunden bei Zimmertemperatur und Tageslicht beurteilt. Es wurden weiße, elfenbeinfarbene, zitronengelbe und goldgelbe Stämme unterschieden.
Nach Sinell & Baumgart (1967) sind nur 2,8% aus Lebensmitteln isolierter eigelb-negativer Staphylokokken koagulase-positiv. Daher wurden, nachdem bei 15 Proben von jeder Verdünnung 10 auf dem KRANEP-Agar mit goldgelbem Pigment wachsende, eigelb-negative Kolonien isoliert worden waren und durchweg eine negative Koagulasereaktion gezeigt hatten, nur alle die Staphylokokken, die eine positive Eigelbreaktion zeigten, gezählt, isoliert und in Schrägagarröhrchen aufbewahrt. Zur Ermittlung der Keimzahl wurde in den Fällen, in denen auf mehreren Platten eigelb-positive Staphylokokken wuchsen, das arithmetische Mittel gebildet.

c) Verwendete Stämme

Im Vorversuch wurde das Wachstum koagulase-negativer Staphylokokken, die aus Lebensmitteln isoliert worden waren und koagulase-positiver Stämme, die zum Teil den gleichen Ursprung hatten, zum Teil aus dem Krankenmaterial des Rudolf-Virchow-Krankenhauses, Berlin und des Krankenhauses am Urban, Berlin isoliert worden waren*), auf den Selektivnährböden geprüft. Daneben wurden folgende Keime aus der Stammsammlung des Institutes verwendet:

Laktobazillen: L.buchneri ATCC 4005, L.brevis ATCC 14869
L.viridescens ATCC 12706, L.plantarum I ATCC 14917.

Aerobe Sporenbildner:
Bac.cereus ATCC 9634, Bac.megaterium ATCC 1458, Bac.pumilus, Bac.licheniformis, Bac.subtilis ATCC 6051.

Gramnegative Stäbchen:
E.coli, Alcaligenes faecalis, Providentia, Klebsiella, Citrobacter, Pseudomonas, Cloaca cloacae, Enterobacter cloacae, Aerobacter aerogenes 12658, Arizona spezialis, Proteus mirabilis, Proteus rettgeri, Proteus vulgaris X 19.

Streptokokken der serologischen Gruppen D und N.

Es wurden jeweils 0,1 ml einer mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 10^4 verdünnten, 24-stündigen Bouillonkultur der verschiedenen Bakterien auf den Selektivplatten ausgespatelt und bei 37°C 48 Stunden bebrütet.

Aus den Hackfleischproben wurden 1579 eigelb-positive Staphylokokken isoliert. Da von jeder Probe sämtliche eigelb-positive Kolonien, die auf den Platten gewachsen waren, isoliert wurden, waren fast alle Stämme mehrfach vorhanden. Es wurden daher die Stämme, die aus derselben Probe stammten, verglichen, und von solchen, die keine Unterschiede in den anfangs untersuchten Eigenschaften (Eigelbreaktion, Pigementbildung und

*) Für die Überlassung der Stämme bin ich Frau Dr. Behle vom Medizinaluntersuchungsamt des Rudolf-Virchow-Krankenhauses und Frau Dr. Hohenadel vom Zentrallabor des Krankenhauses am Urban zu Dank verpflichtet.

Koagulasereaktion) zeigten, jeweils ein Stamm ausgewählt. Auf diese Weise blieben für weitere Untersuchungen 217 verschiedene Stämme. Daneben wurden 184 Stämme aus dem Rudolf-Virchow-Krankenhaus und dem Krankenhaus am Urban, die auf Grund ihrer Hämolyse auf Hammelblutplatten als pathogen angesehen worden waren, untersucht.

d) Pathogenitätsprüfungs- und Differenzierungsmethoden

1. Koagulasereaktion: Für den Nachweis der freien Koagulase wurde die im "International Bulletin of Bact.Nomenclature and Taxonomy (15, 109-110, 1965) angegebene Methode benutzt: Eine Einzelkolonie einer 24-stündigen Blutagarkultur wird mit 1,0 ml frischem Kaninchencitratplasma, das mit physiologischer Kochsalzlösung 1 : 5 verdünnt wurde, verrieben. Es wird je eine positive und negative Kontrolle mitgeführt. Die Bebrütung der beimpften Röhrchen erfolgt bei 37°C im Wasserbad. Eine Ablesung wird nach 1, 2, 4, 8 und 24 Stunden vorgenommen. Jeder Grad der Gerinnung gilt als positiv.

2. Bestimmung der Hämolysine: Zum Nachweis der α-, β- und δ-Hämolysine wurde nach der bei Pulverer (1963) angegebenen Methode verfahren:
Es werden 5%ige Kaninchen-, Hammel- und Menschenblutplatten nebeneinander verwendet, bei deren Herstellung die Erythrozyten dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen sein müssen, da im Serum Staphylokokken-Antilysine vorhanden sein können, die die Reaktion stören würden.
Die Platten können jeweils mit bis zu 6 Stämmen strichförmig beimpft werden. Sie werden bei 37°C in einer ca. 10%igen CO_2-Atmosphäre bebrütet. Eine Ablesung erfolgt nach 36 Stunden. Die "hot-cold-Lysis" wird nach einem weiteren Tag Kühlschrankaufenthalt sichtbar. Auf den Kaninchenblutplatten werden die Stämme senkrecht zu einem mit Anti-α-Lysinserum (20 I.E./ml)* getränkten Filterpapierstreifen und auf den Hammelblutplatten senkrecht zu einem bekannten β-Lysinbildner (Staph.ontario) ausgestrichen.
Die α-Hämolyse erkennt man auf den Kaninchenblutplatten an der breiten Lysiszone, die durch eine Präzipitationslinie

* Dankenswerterweise vom Statens Serum Institut, Kopenhagen zur Verfügung gestellt.

in Filterpapierstreifennähe abgegrenzt wird. Auf der Hammelblutplatte wird sie im Bereich des Kontrollstammes gehemmt und tritt auf den Menschenblutplatten überhaupt nicht in Erscheinung oder verursacht nur eine leichte Aufhellung in Impfstrichnähe (Marks & Vaugham 1950).
Die β-Hämolyse erkennt man auf den Hammelblutplatten an einer breiten, scharf begrenzten, verfärbten Zone, die nach dem Kühlschrankaufenthalt vollständig klar wird. Sie tritt auf den Kaninchen- und Menschenblutplatten nicht in Erscheinung.
Die δ-Lysinbildung ist auf den Kaninchenblutplatten an einer schmalen Lysiszone, die durch das Anti-α-Lysin nicht gehemmt wird, erkennbar. Auf den Hammelblutplatten wird sie im Bereich des Kontrollstammes verstärkt, so daß sich ein ähnliches Bild wie beim CAMP-Phänomen der B-Streptokokken ergibt. Auf den Menschenblutplatten bewirkt das δ-Lysin ebenfalls eine schmale Lysiszone.

3. Fibrinolysinnachweis: Die Fibrinolyse wurde ebenfalls in der bei Pulverer (1963) beschriebenen Arbeitsweise im Plattentest geprüft:
Zu 130 ml Nähragar mit einem pH-Wert von 7,0 werden bei einer Temperatur von 45°C 20 ml Menschencitratplasma hinzugegeben, gut durchmischt und 5 bis 15 Minuten in ein Wasserbad von 60°C gestellt, bis das Fibrin präzipitiert ist.
Der nun trübe Nährboden wird in Petrischalen ausgegossen und mit bis zu 8 Stämmen gleichzeitig beimpft, bei 37°C 24 Stunden bebrütet und noch einen Tag bei Zimmertemperatur belassen. Um fibrinolysin-positive Stämme bildet sich eine klare Zone, die bei schräg auffallendem Licht zu erkennen ist.

4. Nachweis der anaeroben Mannitspaltung: Die Reaktion wurde nach den Angaben von Baird-Parker (1963) durchgeführt:
Das Nährmedium enthält: 0,10% $NH_4H_2PO_4$
0,02% KCl
0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
0,10% Hefeextrakt
0,004% Bromkresolpurpur
0,20% Agar
Es wird auf pH 7,0 eingestellt und im Autoklaven sterilisiert. Zu jeweils 90 ml Nährboden von 45°C werden 10 ml einer seitzgefilterten 10%igen Mannitlösung hinzugegeben . Das Medium

wird in Röhrchen zu 4 ml abgefüllt, 15 Minuten im Wasserbad gekocht und möglichst schnell abgekühlt (Eiswasser).
Die Beimpfung erfolgt mit der Nadel von einer 24 Stunden alten Nähragarkultur. Eine positive und eine negative Kontrolle werden mitgeführt. Die mit Vaseline verschlossenen Röhrchen werden bei 37°C bebrütet. Es wird nach 5 und nach 10 Tagen abgelesen.
Bei einem unvollständigen Farbumschlag wurde nach 10 Tagen der pH-Wert elektrometrisch bestimmt. Als negativ galten alle die Stämme, die nach 10 Tagen die violette Farbe des Nährbodens überhaupt nicht verändert hatten oder einen pH-Wert von über 6,0 aufwiesen. Positiv wurde ein vollständiger Farbumschlag nach gelb oder ein pH-Wert unter 5,5 gewertet. Als ± wurde das Ergebnis dann angesehen, wenn das Röhrchen nur bei der ersten Ablesung negativ erschien oder nach 10 Tagen ein pH-Wert zwischen 5,5 und 6,0 gemessen wurde.

5. Bestimmung des Antibiogramms: Das Verhalten der Staphylokokken gegenüber Antibiotika wurde mit Hilfe von Testscheiben (Multodisks, OXOID) geprüft. Es wurde die Resistenz gegenüber Chloramphenicol (10 mcg), Erythromycin (10 mcg), Novobiocin (5 mcg), Penicillin (1,5 I.E.), Streptomycin (10 mcg) und Tetracyclin (10 mcg) untersucht.
0,1 ml einer 24-stündigen Bouillonkultur des Stammes, der geprüft werden sollte, wurde auf einer Blutagarplatte ausgespatelt. Die Testscheibe wurde auf den Nährboden gelegt und die Platte 4 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, um eine bessere Diffusion der Antibiotika in den Nährboden zu ermöglichen. Nach einem Brutschrankaufenthalt von 24 Stunden wurde das Ergebnis abgelesen. Als empfindlich gegenüber einem Antibiotikum wurde ein Stamm angesehen, wenn er einen Hemmhof von mindestens 0,5 cm Durchmesser aufwies.

e) Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung der Selektivnährbodenprüfung wurde der p a a r w e i s e V e r g l e i c h benutzt.
Es wurde nach der Formel:

$$t = \frac{\overline{d}}{sd} \cdot n$$

wobei $\overline{d} = \frac{\Sigma dv}{n}$

und $sd = \sqrt{\frac{1}{n-1}\left(\Sigma dv^2 - \frac{(\Sigma dv)^2}{n}\right)}$ ist,

und "dv" die Differenz zwischen zwei entsprechenden Werten bezeichnet, durchgeführt.
Eine Signifikanz ist gegeben, wenn $t > t_{\alpha\, f}$ ist, wobei α einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% entspricht und $f = n-1$ Freiheitsgrade bedeutet. Die Werte für $t_{\alpha\, f}$ wurden einer Tabelle entnommen (Erna Weber 3. Auflage 1957 S.428).
Die Frage, ob im Staphylokokkengehalt der einzelnen Fleischsorten ein signifikanter Unterschied besteht, wurde im Vierfeldertest nach der Formel:

$$\chi^2 = \frac{n_{..}(n_{11}n_{22}-n_{12}n_{21})^2}{n_{1.}n_{2.}n_{.1}n_{.2}} \leq \chi^2_{1-\alpha\,;\,1} \text{ geprüft,}$$

wobei $\alpha = 0{,}05$ angenommen werden muß. Die Werte für χ^2 wurden einer Tabelle entnommen (Erna Weber 3. Auflage 1957 S.426).
Die n-Werte errechneten sich nach folgendem Schema:

	Merkmal x	Merkmal y	Summe
Population I	n_{11}	n_{12}	$n_{1.}$
Population II	n_{21}	n_{22}	$n_{2.}$
Summe	$n_{.1}$	$n_{.2}$	$n_{..}$

Der Korrelationskoeffizient wurde nach der Formel:

$r = \frac{(x_i-\bar{x})(y_i-\bar{y})}{n \cdot s_x \cdot s_y}$ bestimmt, wobei $\bar{x}$ und $\bar{y}$ die Mittelwerte und s_x und s_y die Standardabweichung angeben. Die Gleichung der Regressionsgraden wurde nach der Formel $y = \bar{y} + b(x-\bar{x})$ aufgestellt. Der Regressionskoeffizient b läßt sich nach der Formel $b = r \cdot \frac{s_y}{s_x}$ berechnen.

II: E r g e b n i s s e

a) Vorversuch

Es zeigte sich, daß auf dem KRAN-Agar eine Unterscheidung zwischen koagulase-positiven und koagulase-negativen Staphylokokken nicht möglich war, da verschiedene Grade der Mannitspaltung bei Vertretern beider Keimgruppen auftraten und zu einer Blaufärbung der Kolonien auf Grund des Farbumschlages des Indikators führten.
Von 142 koagulase-negativen Staphylokokken zeigten 8 auf dem ETGPA und 6 auf dem TPEY-Agar eine positive Eigelbreaktion. Von 168 koagulase-positiven trat auf dem ETGPA bei 5 und auf dem TPEY-Agar bei 13 Stämmen keine Eigelbreaktion auf. 42 koagulase-positive und 15 koagulase-negative Stämme lieferten auf dem TPEY-Agar und 37 koagulase-positive und 9 koagulase-negative Stämme auf dem ETGPA ein zweifelhaftes Ergebnis: Eine Eigelbreaktion wurde erst nach Entfernung der Kolonien von der Plattenoberfläche sichtbar, die veränderte Zone war nicht scharf von dem übrigen Nährboden abgesetzt oder die Reaktion trat nur unter einzelnen Kolonien eines Stammes auf.
Während die koagulase-positiven Staphylokokken auf beiden Nährböden in tiefschwarzen, häufig weiß umrandeten, bis senfkorngroßen Kolonien wuchsen, zeigten die koagulase-negativen Staphylokokken ein unterschiedliches Bild. Einige wurden stark gehemmt und erschienen als stichgroße, grauweiße Kolonien, andere dagegen waren schwarz gefärbt, wuchsen kräftig und ließen sich von den koagulase-positiven Stämmen nicht unterscheiden.
Die Laktobazillen wurden auf dem KRAN-Agar und dem ETGPA vollständig gehemmt, während sie auf dem TPEY-Agar in vereinzelten farblosen, stichgroßen Kolonien wuchsen.
Aerobe Sporenbildner wuchsen auf allen drei Medien, sie waren jedoch auf Grund ihrer Morphologie gut von den Staphylokokken zu unterscheiden. Auf den tellurithaltigen Nährböden waren sie braunschwarz und auf dem KRAN-Agar hellblau gefärbt. Auf allen Medien erschienen die Kolonien matt, schleimig und unscharf gerandet.
Die gramnegativen Stäbchen wuchsen, abgesehen von Proteus mirabilis, der stichgroße, bläulich durchscheinende Kolonien

bildete, auf dem KRAN-Agar nicht. Auf dem TPEY-Agar und dem ETGPA wuchs Proteus mirabilis in bis reiskorngroßen, braunschwarzen Kolonien. Alcaligenes faecalis wuchs nur auf dem ETGPA in stecknadelkopfgroßen, schwarzen Kolonien. Nur auf dem TPEY-Agar wuchsen Proteus vulgaris und Arizona spec. in braunen Kolonien.
Streptokokken wurchsen auf dem KRAN-Agar vereinzelt in mohnkorngroßen, farblosen Kolonien, während sie auf den tellurithaltigen Nährböden teilweise in grauen, stichgroßen Kolonien wuchsen, teilweise aber auch schwarz gefärbt und größer waren, so daß sie von den koagulase-negativen Staphylokokken kaum unterschieden werden konnten.
Da der TPEY-Agar und der ETGPA weder in ihrer Hemmwirkung noch in der Eigelbreaktion erhebliche Unterschiede aufwiesen, wählte ich für die weiteren Untersuchungen den TPEY-Agar, weil der ETGPA auf dicht bewachsenen Platten eigelb-positive Kolonien schwerer erkennen läßt. Wegen der geringen Übereinstimmung der Mannitspaltung mit der Koagulasereaktion war der KRAN-Agar für meine Zwecke ebenfalls ungeeignet. Für eine Bestimmung der Mikrokokkenzahl und der Zahl der koagulase-negativen Staphylokokken sind die Telluritnährböden nicht geeignet, da sie diese hemmen und außerdem eine Verwechslung mit Streptokokken möglich ist.

b) Hauptversuche

1) Bestimmung der Gesamtkeimzahl, der Zahl der eigelb-positiven und der eigelb-negativen Staphylokokken in Hackfleischproben

In den folgenden Tabellen und graphischen Darstellungen werden Mikrokokken und eigelb-negative Staphylokokken gemeinsam als "Mikrokokken" geführt, da eine weitere Klassifizierung nicht vorgenommen wurde.
Die bei den einzelnen Proben erhobenen Befunde sind auf der Tabelle Seite 30 - 38 dargestellt.
Die Verteilung der Keimzahlen bei den einzelnen Fleischsorten ist aus der Abbildung 1 ersichtlich.
In der Abbildund 2 wurde versucht, die Gesamtkeimgehalte der untersuchten Hackfleischproben in eine Beziehung zur Jahreszeit zu bringen. In den Monaten Januar, Februar, April und

September wurden 13 Proben Schabefleisch, 12 Proben Gehacktes und 19 Proben Hackepeter gekauft. In den Monaten Mai, Juni, Juli und August wurden 37 Proben Schabefleisch, 33 Proben Gehacktes und 31 Proben Hackepeter untersucht.
Die Relationen zwischen pH-Wert und Gesamtkeimzahl sowie zwischen Mikrokokkenzahl und Gesamtkeimzahl zeigen die Abbildungen 3 und 4. Hiernach sind Gesamtkeimzahl und Mikrokokkenzahl in allen Hackfleischsorten signifikant miteinander korreliert.
Die Zahl der eigelb-positiven Staphylokokken, die mit Hilfe der Selektivnährböden nachgewiesen werden konnte, war klein. Auf dem TPEY-Agar wurden in 63,4% der Schabefleischproben, in 74,6% der Proben von Gehacktem und in 75% der Hackepeterproben eigelb-positive Staphylokokken festgestellt. Auf dem KRANEP-Agar war das bei 42,1% der Schabefleischproben, bei 44% der Proben von Gehacktem und bei 59,7% der Hackepeterproben der Fall. Es konnten aber nur in 4 Schabefleischproben, 5 Proben Gehacktem und 11 Proben Hackepeter mehr als 1000 eigelb- und koagulase-positive Staphylokokken im Gramm Material nachgewiesen werden. Diese 20 Proben hatten gemeinsam, daß sie alle in der warmen Jahreszeit untersucht worden waren. Im übrigen stammten sie jedoch ebenso aus Betrieben des Einzelhandels unterschiedlicher Größe wie aus Filialbetrieben. Der Einkauf hatte zu verschiedenen Tageszeiten stattgefunden und in den Läden waren keine auffälligen Verschmutzungen festzustellen gewesen. Die pH-Werte bewegten sich zwischen 5,6 und 6,1, nur in einem Fall lag der Wert bei 6,25. Auch die Gesamtkeimzahlen und die Mikrokokkenzahlen lagen, außer bei zwei Proben, deren Gesamtkeimzahlen 20 bzw. 25 Mill. betrugen, nicht auffällig hoch.
Nach den Versuchsergebnissen konnte vermutet werden, daß der Staphylokokkengehalt der einzelnen Fleischsorten Unterschiede aufweist. Daher wurden folgende Hypothesen aufgestellt und mit dem Vierfeldertest geprüft:

1) Der Anteil der Proben ohne ermittelbaren Staphylokokkengehalt ist bei Schabefleisch und Hackepeter gleich.
2) Der Anteil der Proben mit einem Staphylokokkengehalt von über 500 Keimen/g ist bei Schabefleisch und Hackepeter gleich.

In beiden Fällen mußte die Hypothese angenommen werden, da sich für α Werte von 3,18 und 3,62 ergaben. Der empirische Unterschied mußte noch als zufällig angesehen werden.

Der paarweise Vergleich der Zahl der auf dem KRANEP- und dem TPEY-Agar gewachsenen eigelb-positiven Staphylokokken ergab einen t-Wert von 2,99, der besagt, daß die größere Ausbeute an eigelb-positiven Staphylokokken auf dem TPEY-Agar signifikant ist. Bei dem Vergleich der absoluten Anzahl der gleichzeitig eigelb- und koagulase-positiven Staphylokokken auf beiden Nährböden ergab sich ein t-Wert von 0,07, der beweist, daß kein signifikanter Unterschied besteht. Jedoch ist, wie ein t-Wert von 6,49 zeigt, der prozentuale Anteil der koagulase-positiven bei den eigelb-positiven Staphylokokken auf dem KRANEP-Agar signifikant höher als auf dem TPEY-Agar.
Es wurde auch versucht, eine Beziehung sowohl zum Gesamtkeimgehalt als auch zur Gesamtmikrokokkenzahl nachzuweisen. Für eine derartige Berechnung eignen sich allerdings nur Staphylokokkenfunde mit einem Logarithmus von mehr als 2,0. Dies trifft indessen nur bei einer sehr geringen Anzahl von Proben zu, so daß eine statistische Auswertung nicht sinnvoll erschien.

CHARAKTERISTIK DER PROBEN (Keimzahlen in Logarithmen)

I Schabefleisch

Nr.	Datum	Uhrzeit	Herkunft	pH-Wert	Gesamtkeimz.	Mikrokokken auf KRANEP	Staphylokokken eigelb-positiv TPEY	Staphylokokken eigelb-positiv KRANEP	Staphylokokken davon koagulase-positiv TPEY	Staphylokokken davon koagulase-positiv KRANEP
1	3.1.	9^{30}	kF	5,80	6,28	5,95	-	-	-	-
2	5.1.	8^{00}	kF	5,65	5,73	5,46	2,30	2,00	2,00	2,00
3	5.1.	8^{00}	kF	5,85	6,30	5,87	2,00	2,00	-	-
4	14.1.	8^{00}	Fb	5,50	5,90	4,62	2,00	-	-	-
5	14.1.	14^{00}	gF	5,70	6,15	5,11	2,00	-	-	-
6	19.1.	13^{30}	Fb	5,60	4,36	4,23	2,00	-	-	-
7	28.1.	8^{00}	kF	5,60	5,97	5,23	2,00	-	-	-
8	28.1.	8^{00}	kF	5,70	6,43	6,04	-	-	-	-
9	4.2.	8^{00}	kF	6,00	5,48	5,15	2,00	2,00	-	2,00
10	10.4.	8^{00}	gF	5,90	5,76	5,26	2,00	-	-	-
11	12.4.	8^{00}	kF	5,95	6,30	5,76	2,60	2,48	2,00	2,30
12	12.4.	8^{00}	kF	5,65	6,20	5,15	2,85	-	-	-
13	26.4.	10^{30}	Fb	5,95	5,57	4,72	2,48	-	-	-
14	2.5.	9^{00}	gF	5,80	5,65	4,68	-	-	-	-
15	3.5.	8^{30}	gF	5,60	5,26	4,42	2,60	2,48	-	2,00
16	12.5.	17^{00}	kF	5,75	6,26	5,64	-	-	-	-
17	12.5.	17^{00}	gF	5,55	6,57	6,04	-	-	-	-
18	12.5.	17^{00}	gF	5,75	6,54	6,00	3,30	3,28	3,20	3,28
19	24.5.	16^{00}	kF	5,55	6,48	6,15	-	2,48	-	2,48
20	25.5.	16^{00}	kF	5,80	6,04	4,77	-	-	-	-

Nr.	Datum	Uhrzeit	Herkunft	pH-Wert	Gesamtkeimz.	Mikrokokken auf KRANEP	Staphylokokken eigelb-positiv TPEY	Staphylokokken eigelb-positiv KRANEP	Staphylokokken davon koagulase-positiv TPEY	Staphylokokken davon koagulase-positiv KRANEP
21	25.5.	16^{00}	kF	5,60	6,52	6,00	3,15	3,08	3,00	3,00
22	2.6.	10^{00}	kF	5,75	6,46	5,56	-	2,00	-	2,00
23	2.6.	10^{00}	kF	6,05	6,54	5,90	2,60	-	2,00	-
24	2.6.	10^{00}	kF	5,75	6,04	5,32	-	2,00	-	2,00
25	2.6.	10^{00}	kF	5,95	6,08	5,30	-	-	-	-
26	2.6.	10^{00}	kF	5,70	6,58	6,20	2,90	-	2,60	-
27	3.6.	9^{30}	kF	5,75	6,00	4,94	-	-	-	-
28	3.6.	9^{30}	kF	5,65	5,38	5,15	-	-	-	-
29	3.6.	9^{30}	kF	6,20	7,38	5,90	-	-	-	-
30	3.6.	9^{30}	gF	5,80	6,93	6,08	-	-	-	-
31	3.6.	9^{30}	kF	6,10	6,15	5,40	-	-	-	-
32	15.6.	16^{00}	Fb vp	5,90	5,66	5,26	-	-	-	-
33	15.6.	16^{00}	Fb	5,85	5,65	5,15	2,00	2,00	-	2,00
34	15.6.	16^{00}	Fb	5,70	5,78	5,42	-	-	-	-
35	15.6.	18^{00}	Fb	5,90	5,18	5,18	2,30	2,00	-	2,00
36	15.6.	18^{00}	kF	5,70	6,58	5,77	2,48	2,00	2,48	2,00
37	15.6.	18^{00}	kF	5,55	5,86	5,40	2,60	2,48	2,30	2,48
38	22.6.	18^{00}	gF	5,75	5,88	5,63	3,54	3,58	3,49	3,54
39	22.6.	18^{00}	Fb vp	5,60	5,52	5,15	2,00	2,00	-	2,00
40	22.6.	18^{00}	gF	5,55	6,98	5,79	2,00	-	-	-
41	30.6.	11^{00}	kF	5,60	6,20	5,84	2,30	2,00	2,30	2,00
42	30.6.	11^{00}	kF	6,15	5,83	4,91	-	-	-	-

Nr.	Datum	Uhrzeit	Herkunft	pH-Wert	Gesamtkeimz.	Mikrokokken auf KRANEP	Staphylokokken eigelb-positiv TPEY	Staphylokokken eigelb-positiv KRANEP	Staphylokokken davon koagulase-positiv TPEY	Staphylokokken davon koagulase-positiv KRANEP
43	5.8.	10^{00}	gF	5,90	7,40	6,92	3,53	3,00	3,53	3,30
44	9.8.	12^{30}	Fb	6,30	6,69	5,20	2,00	-	-	-
45	9.8.	12^{30}	Fb	5,90	6,46	5,58	2,00	-	-	-
46	9.8.	12^{30}	gefr.	5,60	5,11	4,18	-	-	-	-
47	10.8.	9^{00}	gefr.	5,75	5,04	4,51	2,00	-	2,00	-
48	10.8.	9^{00}	Fb vp	5,85	6,30	5,20	2,70	2,70	-	2,70
49	10.8.	9^{00}	kF	5,90	6,98	6,23	-	-	-	-
50	16.8.	10^{00}	Fb	5,60	5,95	5,08	2,85	2,00	2,30	-
51	16.8.	10^{00}	Fb	5,90	6,53	5,64	2,30	-	-	-
52	16.8.	10^{00}	Fb vp	5,85	5,32	4,65	-	-	-	-
53	19.9.	8^{30}	gefr.	5,60	4,87	4,57	-	-	-	-
54	20.9.	12^{00}	gefr.	5,70	4,52	3,38	2,60	2,60	2,60	2,60
55	20.9.	12^{00}	gefr.	5,65	5,11	4,68	-	2,00	-	2,00
56	20.9.	12^{00}	gefr.	5,70	4,79	4,39	2,00	2,00	2,00	2,00
57	20.9.	12^{00}	gefr.	5,65	4,81	4,49	2,30	-	2,00	-

II Gehacktes

Nr.	Datum	Uhrzeit	Herkunft	pH-Wert	Gesamtkeimz.	Mikrokokken auf KRANEP	Staphylokokken eigelb-positiv TPEY	Staphylokokken eigelb-positiv KRANEP	Staphylokokken davon koagulase-positiv TPEY	Staphylokokken davon koagulase-positiv KRANEP
1	15.1.	18^{00}	Fb vp	6,05	5,52	4,75	-	-	-	-
2	16.1.	12^{00}	gefr.	5,80	5,88	4,82	-	-	-	-
3	16.1.	12^{00}	gefr.	5,75	5,85	4,90	2,00	-	-	-
4	16.1.	14^{00}	gefr.	5,80	6,20	4,66	-	-	-	-
5	16.1.	14^{00}	gefr.	5,85	6,15	4,89	2,00	-	-	-
6	16.1.	18^{00}	gefr.	5,75	6,20	4,89	-	-	-	-
7	16.1.	18^{00}	gefr.	5,80	5,99	4,78	-	-	-	-
8	17.1.	8^{00}	Fb	5,70	6,46	4,57	2,00	-	2,00	-
9	17.1.	14^{00}	gF	6,20	5,98	5,93	2,00	2,00	-	-
10	17.1.	18^{00}	Fb vp	6,20	6,56	5,69	2,00	-	-	-
11	19.1.	17^{00}	Fb	5,90	5,34	5,20	2,00	2,00	-	-
12	28.1.	8^{00}	kF	5,80	5,48	5,26	2,48	2,00	2,30	2,00
13	28.1.	8^{00}	kF	5,80	5,96	5,15	2,00	2,48	2,00	2,00
14	4.2.	8^{00}	kF	5,85	5,36	4,23	2,00	2,30	-	-
15	10.4.	8^{00}	gF	6,15	6,26	5,23	-	-	-	-
16	12.4.	8^{00}	kF	5,85	6,84	6,48	2,60	2,30	2,48	2,30
17	12.4.	8^{00}	kF	5,80	6,11	5,64	2,69	2,30	2,30	2,30
18	26.4.	10^{30}	Fb	5,85	5,87	5,36	2,85	-	2,00	-
19	2.5.	9^{00}	gefr.	6,00	6,00	4,99	2,48	-	2,30	-
20	2.5.	9^{00}	gF	6,10	6,61	6,43	2,90	2,30	2,78	2,30

Nr.	Datum	Uhrzeit	Herkunft	pH-Wert	Gesamtkeimz.	Mikrokokken auf KRANEP	Staphylokokken eigelb-positiv TPEY	Staphylokokken eigelb-positiv KRANEP	Staphylokokken davon koagulase-positiv TPEY	Staphylokokken davon koagulase-positiv KRANEP
21	3.5.	8^{30}	gF	5,65	6,18	5,82	3,11	2,85	2,78	2,67
22	12.5.	17^{00}	kF	5,95	6,53	6,04	3,69	3,88	3,30	3,67
23	12.5.	17^{00}	gF	5,90	6,23	6,04	2,95	2,78	2,60	2,00
24	12.5.	17^{00}	gF	5,95	6,72	6,04	2,48	2,30	-	2,30
25	25.5.	16^{00}	kF	6,25	7,18	5,88	2,48	2,48	-	-
26	25.5.	16^{00}	kF	5,90	6,40	5,28	2,48	-	2,00	-
27	25.5.	16^{00}	kF	5,70	6,91	5,54	3,60	3,34	2,53	3,34
28	2.6.	10^{00}	kF	5,95	7,26	5,96	2,48	2,30	-	2,00
29	2.6.	10^{00}	kF	6,05	6,61	5,95	2,00	2,00	-	2,00
30	2.6.	10^{00}	kF	5,85	6,04	5,72	2,30	-	-	-
31	2.6.	10^{00}	kF	6,05	7,38	6,08	2,60	2,00	2,48	2,00
32	2.6.	10^{00}	kF	6,15	7,48	6,79	2,48	2,00	2,48	2,00
33	3.6.	9^{30}	kF	5,80	7,00	5,80	2,78	2,48	-	2,00
34	3.6.	9^{30}	kF	5,75	6,11	5,68	2,70	-	2,00	-
35	3.6.	9^{30}	kF	6,45	7,04	5,94	2,00	-	-	-
36	3.6.	9^{30}	gF	5,95	6,71	6,36	2,30	-	2,00	-
37	3.6.	9^{30}	kF	6,30	6,15	5,28	2,60	-	-	-
38	15.6.	16^{00}	Fb vp	5,80	5,90	5,40	-	-	-	-
39	15.6.	16^{00}	Fb	6,15	6,00	5,98	2,48	2,00	-	2,00
40	15.6.	16^{00}	Fb	6,05	6,61	5,78	-	-	-	-
41	15.6.	18^{00}	Fb	5,85	6,81	6,69	2,30	-	2,30	-
42	15.6.	18^{00}	kF	5,90	6,18	5,99	2,30	-	2,30	-

Nr.	Datum	Uhrzeit	Herkunft	pH-Wert	Gesamtkeimz.	Mikrokokken auf KRANEP	Staphylokokken eigelb-positiv TPEY	Staphylokokken eigelb-positiv KRANEP	Staphylokokken davon koagulase-positiv TPEY	Staphylokokken davon koagulase-positiv KRANEP
43	15.6.	18^{00}	kF	5,85	7,30	6,93	3,48	3,23	3,38	3,23
44	22.6.	18^{00}	gF	5,90	6,85	5,96	3,48	3,65	3,46	3,65
45	22.6.	18^{00}	Fb vp	5,90	6,08	5,58	2,30	-	-	-
46	22.6.	18^{00}	gF	6,55	7,98	7,20	2,00	2,00	-	2,00
47	30.6.	11^{00}	kF	6,25	6,91	6,56	3,57	3,26	3,57	3,26
48	30.6.	11^{00}	kF	6,25	6,15	5,54	-	-	-	-
49	19.7.	8^{30}	gF	6,10	6,72	6,15	2,30	-	2,30	-
50	19.7.	8^{30}	kF	5,90	6,94	5,65	2,60	-	2,48	-
51	21.7.	11^{00}	Fb	6,10	6,75	5,79	3,11	2,60	2,85	2,60
52	5.8.	10^{00}	gF	6,20	6,96	6,26	2,67	2,78	2,60	2,48
53	9.8.	12^{30}	gefr.	5,90	6,08	5,04	2,00	-	2,00	-
54	10.8.	9^{00}	gefr.	5,85	5,80	5,04	-	-	-	-
55	19.9.	8^{30}	gefr.	5,80	5,95	5,18	-	-	-	-
56	20.9.	12^{00}	gefr.	6,20	6,15	5,81	-	2,60	-	2,60
57	20.9.	12^{00}	gefr.	6,15	4,81	4,11	-	-	-	-
58	20.9.	12^{00}	gefr.	5,95	5,96	5,52	-	-	-	-
59	20.9.	12^{00}	gefr.	6,10	4,95	4,15	-	-	-	-

III Hackepeter

Nr.	Datum	Uhrzeit	Herkunft	pH-Wert	Gesamtkeimz.	Mikrokokken auf KRANEP	Staphylokokken eigelb-positiv TPEY	Staphylokokken eigelb-positiv KRANEP	Staphylokokken davon koagulase-positiv TPEY	Staphylokokken davon koagulase-positiv KRANEP
1	30.6.	11^{00}	kF	6,00	6,20	5,95	3,58	3,36	3,43	3,36
2	30.6.	11^{00}	kF	6,15	5,63	5,00	4,06	3,89	4,00	3,89
3	19.7.	8^{30}	gF	5,90	6,11	5,49	3,08	3,18	3,08	3,18
4	19.7.	8^{30}	kF	5,80	5,20	4,79	-	-	-	-
5	19.7.	8^{30}	Fb	5,80	6,18	5,92	2,00	2,00	2,00	2,00
6	19.7.	8^{30}	gF	6,20	6,62	5,32	2,00	2,00	2,00	2,00
7	21.7.	11^{00}	Fb vp	5,90	5,36	4,48	-	2,00	-	2,00
8	21.7.	11^{00}	Fb	6,00	5,78	5,08	2,00	2,30	2,00	2,30
9	5.8.	10^{00}	Fb	5,95	6,64	5,52	3,08	2,00	-	2,00
10	5.8.	10^{00}	Fb vp	6,10	5,94	5,46	-	-	-	-
11	5.8.	10^{00}	kF	5,85	6,20	5,80	2,30	-	2,00	-
12	5.8.	10^{00}	gF	6,05	5,72	5,28	2,90	2,30	2,60	2,30
13	5.8.	10^{00}	kF	5,75	5,51	5,08	2,95	2,60	2,48	2,60
14	5.8.	10^{00}	Fb	6,10	5,93	5,40	2,70	-	2,00	-
15	5.8.	10^{00}	gF	6,10	5,80	5,53	3,04	2,00	2,70	2,00
16	9.8.	12^{30}	Fb	5,85	6,38	5,69	2,00	-	-	-
17	9.8.	12^{30}	Fb	6,10	6,57	5,56	2,60	-	-	-
18	9.8.	12^{30}	Fb vp	6,10	6,52	5,54	-	-	-	-
19	9.8.	12^{30}	Fb	6,00	5,82	4,99	2,30	2,00	2,30	-
20	10.8.	9^{00}	Fb vp	5,95	5,87	5,62	2,30	-	-	-

Nr.	Datum	Uhrzeit	Herkunft	pH-Wert	Gesamtkeimz.	Mikrokokken auf KRANEP	Staphylokokken eigelb-positiv TPEY	Staphylokokken eigelb-positiv KRANEP	Staphylokokken davon koagulase-positiv TPEY	Staphylokokken davon koagulase-positiv KRANEP
21	10.8.	9^{00}	kF	5,85	5,66	5,11	2,48	2,00	2,30	2,00
22	10.8.	9^{00}	Fb	6,15	6,45	5,96	2,00	-	-	-
23	10.8.	9^{00}	gF	5,95	5,99	5,73	3,51	3,11	3,40	3,11
24	10.8.	9^{00}	gF	5,75	6,91	5,67	2,30	2,00	2,00	2,00
25	16.8.	10^{00}	kF	6,00	6,51	5,82	2,30	2,00	-	2,00
26	16.8.	10^{00}	kF	6,10	6,26	5,92	3,00	3,11	3,00	3,11
27	16.8.	10^{00}	kF	6,10	5,98	5,78	-	-	-	-
28	16.8.	10^{00}	kF	6,90	7,20	5,60	2,00	-	2,00	-
29	16.8.	10^{00}	kF	5,95	6,98	6,32	3,43	3,30	3,43	3,30
30	16.8.	10^{00}	Fb vp	6,20	6,23	5,79	2,78	2,78	2,78	2,78
31	16.8.	10^{00}	Eb	5,80	5,81	5,54	3,63	3,67	3,61	3,67
32	13.9.	9^{00}	Fb vp	6,10	5,64	5,08	-	-	-	-
33	13.9.	9^{00}	kF	6,25	5,57	4,93	2,00	-	2,00	-
34	13.9.	9^{00}	kF	6,00	5,51	5,28	2,30	-	2,30	-
35	13.9.	9^{00}	Fb	5,90	5,67	5,40	-	-	-	-
36	13.9.	9^{00}	Fb	5,85	6,15	5,81	2,30	2,00	2,30	2,00
37	14.9.	8^{30}	kF	6,10	6,56	5,51	-	2,00	-	-
38	14.9.	8^{30}	kF	5,90	6,15	5,62	2,30	2,48	2,30	2,00
39	14.9.	8^{30}	kF	6,15	6,67	5,80	2,95	3,08	2,90	3,08
40	17.9.	8^{30}	kF	6,25	5,86	5,58	2,95	2,00	2,95	2,00
41	14.9.	8^{30}	gF	6,00	6,71	5,88	3,11	2,90	3,11	2,90
42	14.9.	8^{30}	kF	6,50	6,36	5,51	2,70	2,00	2,30	-

Nr.	Datum	Uhrzeit	Herkunft	pH-Wert	Gesamtkeimz.	Mikrokokken auf KRANEP	Staphylokokken eigelb-positiv TPEY	Staphylokokken eigelb-positiv KRANEP	Staphylokokken davon koagulase-positiv TPEY	Staphylokokken davon koagulase-positiv KRANEP
43	15.9.	10^{00}	gF	6,05	5,90	5,75	2,70	-	2,00	-
44	15.9.	10^{00}	kF	6,00	6,49	5,66	2,90	2,00	2,90	2,00
45	15.9.	10^{00}	kF	6,05	5,68	5,40	-	-	-	-
46	15.9.	10^{00}	gF	5,95	6,34	5,50	-	-	-	-
47	15.9.	10^{00}	kF	5,85	6,98	6,00	2,70	2,30	2,70	2,30
48	15.9.	10^{00}	gF	5,80	5,40	4,74	3,94	4,15	3,94	4,15
49	15.9.	10^{00}	kF	6,00	5,23	4,20	-	-	-	-
50	15.9.	10^{00}	Fb	6,05	6,11	5,88	3,92	3,20	3,38	3,15
51	20.9.	12^{00}	gefr.	6,25	5,36	4,63	-	-	-	-
52	20.9.	12^{00}	gefr.	6,20	5,73	4,99	-	-	-	-

gF - großer Fleischereibetrieb (mehrere Personen Verkaufspersonal, mehr als ein Schaufenster)

kF - kleiner Fleischereibetrieb

Fb - Filialbetrieb

vp - vorverpackt

gefr. - tiefgefroren

2) Differenzierung und Pathogenitätsprüfung der aus dem Hackfleisch isolierten Stämme und der Stämme humanen Ursprungs

Von den insgesamt 217 eigelb-positiven Stämmen, die aus Hackfleisch isoliert worden waren, zeigten 177 (81,6%) eine positive und 40 (18,4%) eine negative Koagulasereaktion. Von den 184 Humanstämmen waren 153 (85,3%) koagulase-positiv und 31 (14,7%) koagulase-negativ.
Die Gegenüberstellung der Hackfleisch- und Humanstämme in Bezug auf ihre Eigelbreaktion, Mannitspaltung, Pigmentbildung und ihr Hämolysemuster zeigen die Tabellen 1 bis 4.

Tabelle 1

Koagulase-positive Stämme

Eigelbreaktion auf KRANEP	TPEY	Hackfleisch-stämme	%	Human-stämme	%
+	+	145	82,0	102	66,6
+	±	6	3,4	4	2,6
±	±	14	7,9	7	4,6
±	+	7	3,9	1	0,7
±	-	3	1,7	Ø	Ø
-	-	Ø	Ø	10	6,5
-	±	2	1,1	27	17,7
-	+	Ø	Ø	2	1,3
		177	100	153	100

Koagulase-negative Stämme

Eigelbreaktion auf KRANEP	TPEY	Hackfleisch-stämme	%	Human-stämme	%
+	+	4	10,0	Ø	Ø
+	-	1	2,5	Ø	Ø
±	±	7	17,5	1	3,2
±	+	5	12,5	Ø	Ø
±	-	1	2,5	1	3,2
-	-	Ø	Ø	23	74,2
-	±	16	40,0	4	12,9
-	+	6	15,0	2	6,5
		40	100	31	100

Tabelle 2

Koagulase-positive Stämme

anaerobe Mannitspaltung	Hackfleisch-stämme	%	Human-stämme	%
+	137	77,4	145	94,7
±	29	16,4	7	4,6
-	11	6,2	1	0,7
	177	100	153	100

Koagulase-negative Stämme

anaerobe Mannitspaltung	Hackfleisch-stämme	%	Human-stämme	%
+	28	70,0	5	16,1
±	3	7,5	12	38,7
-	9	22,5	14	45,2
	40	100	31	100

Tabelle 3

Koagulase-positive Stämme

Pigmentation	Hackfleisch-stämme	%	Human-stämme	%
gelb	105	59,3	76	49,6
elfenbein	53	29,9	53	34,7
weiß	18	10,2	13	8,5
zitrone	1	0,6	11	7,2
	177	100	153	100

Koagulase-negative Stämme

Pigmentation	Hackfleisch-stämme	%	Human-stämme	%
gelb	4	10,0	3	9,7
elfenbein	13	32,5	6	19,4
weiß	21	52,5	21	67,7
zitrone	2	5,0	1	3,2
	40	100	31	100

Tabelle 4

Koagulase-positive Stämme

Hämolysemuster	Hackfleischstämme	%	Humanstämme	%
α;3δ	69	39,0	88	57,5
αδ	62	35,1	46	30,0
;3δ	13	7,3	10	6,5
δ	11	6,2	3	2,0
α	8	4,5	4	2,6
;3	7	3,9	1	0,7
α;3	4	2,3	1	0,7
-	3	1,7	ø	ø
	177	100	153	100

Koagulase-negative Stämme

Hämolysemuster	Hackfleischstämme	%	Humanstämme	%
δ	32	80,0	30	96,8
;3	4	10,0	ø	ø
-	4	10,0	ø	ø
αδ	ø	ø	1	3,2
	40	100	31	100

Bei der Beurteilung der Gegenüberstellung muß berücksichtigt werden, daß die Lebensmittelstämme auf Grund ihrer Eigelbreaktion isoliert wurden und daher dort eigelb-negative Staphylokokken fehlen. Bei den Humanstämmen sind keine anhämolytischen vorhanden, da bei ihrer Isolierung die Hämolysebildung als Pathogenitätsmerkmal angesehen wurde.

Alle koagulase-negativen Stämme waren auch fibrinolysin-negativ. Von den koagulase-positiven bildeten 85% der Humanstämme und 64% der Hackfleischstämme Fibrinolysin. Alle Stämme, die nur das ;3 -Hämolysin bildeten, waren fibrinolysin-negativ. Dagegen waren die Humanstämme, die eine α;3δ -Hämolyse zeigten, zu 87% und die Hackfleischstämme zu 63% fibrinolysin-positiv. Beim Vergleich der Eigelbreaktion mit der Fibrinolysinbildung zeigte sich, daß 80% der Humanstämme und 74% der Hackfleischstämme eigelb- und fibrinolysin-positiv waren.

Die Verteilung der Antibiotikaresistenz zeigt die Tabelle 5.

Antibiogramm	Koagulase-reaktion	Hackfleisch-stämme	%	Human-stämme	%
empfindlich	+	119	67,2	30	19,6
P	+	33	18,5	25	16,2
P,S,TE	+	1	0,6	26	17,0
P,S,TE,E	+	Ø	Ø	22	14,3
P,S	+	1	0,6	16	10,5
P,TE,C,E	+	Ø	Ø	10	6,5
P,TE	+	4	2,3	8	5,2
NV	+	8	4,4	Ø	Ø
P,NV	+	5	2,8	Ø	Ø
P,NV,S	+	1	0,6	Ø	Ø
NV,TE	+	1	0,6	Ø	Ø
NV,TE,E	+	1	0,6	Ø	Ø
P,S,TE,C	+	1	0,6	Ø	Ø
S	+	1	0,6	3	2,0
C	+	1	0,6	1	0,7
TE,E	+	Ø	Ø	3	2,0
S,TE	+	Ø	Ø	2	1,3
P,S,TE,C,E	+	Ø	Ø	2	1,3
TE	+	Ø	Ø	2	1,3
P,TE,E	+	Ø	Ø	1	0,7
P,E	+	Ø	Ø	1	0,7
E	+	Ø	Ø	1	0,7
		177	100	153	100
empfindlich	-	29	72,5	13	42,0
NV	-	4	10,0	2	6,5
P	-	3	7,5	1	3,2
TE	-	3	7,5	Ø	Ø
P,NV	-	1	2,5	Ø	Ø
P,S,TE	-	Ø	Ø	3	9,7
P,S	-	Ø	Ø	2	6,5
C	-	Ø	Ø	2	6,5
P,S,C	-	Ø	Ø	1	3,2
P,TE	-	Ø	Ø	1	3,2
P,TE,C,E	-	Ø	Ø	1	3,2

Antibiogramm	Koagulase-reaktion	Hackfleisch-stämme	%	Human-stämme	%
P,S,TE,C,E	-	Ø	Ø	1	3,2
P,NV,C	-	Ø	Ø	1	3,2
P,TE,C	-	Ø	Ø	1	3,2
P,TE,NV	-	Ø	Ø	1	3,2
TE,C	-	Ø	Ø	1	3,2
		40	100	31	100

P = Penicillin
NV = Novobiocin
S = Streptomycin
TE = Tetracycline
C = Chloramphenicol
E = Erythromycin

Im ganzen waren 33% der Humanstämme und 83% der Hackfleischstämme gegen Penicillin empfindlich. Doch waren nur 15% der koagulase-positiven Humanstämme, die eine negative oder zweifelhafte Eigelbreaktion zeigten, penicillinempfindlich. Die unpigmentierten koagulase-positiven Staphylokokken waren bei den Humanstämmen zu 33% und bei den Hackfleischstämmen zu 50% gegen Penicillin empfindlich.

D: DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, mit Hilfe von Selektivnährböden das Vorkommen von Staphylokokken bei Hackfleisch des Handels festzustellen. Die Methodik basierte auf Ausstrichen von Verdünnungen in Zehnerpotenzen.

Als sicherstes Zeichen für die Pathogenität von Staphylokokken gilt eine positive Koagulasereaktion. Die Verwendung der Eigelbreaktion als Pathogenitätskriterium birgt daher einen gewissen Unsicherheitsfaktor, da beide Merkmale nicht in jedem Fall übereinstimmen. Jedoch ist der Fehler verhältnismäßig gering, da die koagulasebildenden Stämme zu einem hohen Anteil auch eine positive Eigelbreaktion zeigen (nach Alder et al. 1953 zu 84 %, nach Hopton 1961 zu 77 %, nach Pulverer 1966 zu 87 %). Koagulase-positive Stämme aus Lebensmitteln erwiesen sich nach den Angaben von Sinell & Baumgart sogar zu 97,2 % als eigelb-positiv.

Während schon häufiger eigelb- und tellurithaltige Medien bei der Isolierung von Staphylokokken aus Lebensmitteln Verwendung fanden (Jay 1961, Jay 1962a, Baird-Parker 1962a, Donelly et al. 1964, Crisley et al. 1965, Basille et al. 1965), wurde erstmalig bei einer derartigen Untersuchung der KRANEP-Agar (Sinell & Baumgart 1967) benutzt, auf dem neben der Eigelbreaktion auch die Pigmentbildung beurteilt werden kann. Im Vergleich mit dem TPEY-Agar (Crisley et al. 1964) zeigte sich der KRANEP-Agar insofern überlegen, als sich auf ihm gleichzeitig die Zahl der Mikrokokken feststellen ließ, was auf dem TPEY-Agar wegen der Gefahr der Verwechslung mit Streptokokken nicht möglich war. Ein weiterer Vorteil des KRANEP-Agars lag in der Möglichkeit, mit Hilfe der Pigmentation zu entscheiden, ob die Infektion des Lebensmittels durch einen oder mehrere Staphylokokkenstämme stattgefunden hatte. Der Vorteil, den der TPEY-Agar zu bieten schien, indem er eine höhere Isolierungsrate eigelb-positiver Keime zeigte, erwies sich als hinfällig, da nur bei einem Teil dieser Stämme die Koagulasereaktion positiv ausfiel. Die statistische Auswertung der Ergebnisse zeigte dann auch, daß in der Isolierungsrate gleichzeitig eigelb- und koagulase-positiver Staphylokokken kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Nährböden besteht. Die Wahrscheinlichkeit, daß ein Stamm, der auf dem Nährboden eigelb-positiv erscheint auch koagulase-positiv ist, ist jedoch größer, wenn der KRANEP-Agar statt des TPEY-Agars verwendet wird. Auf eine Überprüfung der Koagulasereaktion der isolierten eigelb-positiven Stämme kann allerdings nicht verzichtet werden. Die Mikrokokkenflora stellt

nach den vorliegenden Ergebnissen einen auffallend hohen Anteil der Gesamtkeimzahl im Hackfleisch. Beide Größen sind signifikant miteinander korreliert. Demgegenüber erwies sich der Staphylokokkengehalt als weitgehend unabhängig von der Gesamtkeimzahl ebenso wie vom Gehalt an Mikrokokken. Eine Abhängigkeit des Mikrokokkengehaltes von der Gesamtkeimzahl ist zu erwarten, da die Mikrokokken einen normalen Bestandteil der saprophytischen Keimflora des Hackfleisches darstellen. Verschiebungen sind nur dann zu erwarten, wenn, wie im Falle des Hackepeters, Zusätze anderer Stoffe vorgenommen wurden.
Geht man von der Hypothese aus, daß die Staphylokokken in erster Linie von der Haut und den Sekreten des Menschen herstammen, so würde sich ihre Unabhängigkeit von dem Gehalt an übrigen Keimen zwanglos erklären, da diese überwiegend anderen Ursprungs sind.
Der Anteil der Proben, die Staphylokokken enthielten, war größer als in früheren Arbeiten beschrieben wurde. Während dort in 30 bis 40 % der Proben Staphylokokken gefunden wurden (Jay 1962a, Hoffmann 1963, Ghoneim 1964), fand ich bei 57 % meiner Untersuchungen eigelb- und koagulase-positive Staphylokokken. Jedoch enthielten 78 % der Proben Staphylokokkenzahlen von weniger als 1000 Keimen/g Material. Die häufigeren Funde dürften vermutlich den besseren Selektiveigenschaften der verwendeten Nährmedien zuzuschreiben sein. In keinem Fall wurde ein Staphylokokkengehalt nachgewiesen, der nach der bisher in der Literatur herrschenden Auffassung geeignet gewesen wäre, selbst unter Voraussetzung einer Toxinbildung Lebensmittelvergiftungen hervorzurufen. Es ist nicht geklärt, inwiefern es bei mehrstündiger Lagerung zur Toxinbildung hätte kommen können.

Obwohl es den Anschein hat, daß in bezug auf den Staphylokokkengehalt bei den einzelnen Hackfleischsorten Unterschiede bestehen, müssen die verschiedenen Werte auf Grund der verhältnismäßig geringen Anzahl der untersuchten Proben noch als zufällig angesehen werden.
Bei der Differenzierung der aus dem Hackfleisch isolierten Stämme waren zwei Dinge von Interesse:

1. Inwieweit stimmen andere als Pathogenitätsmerkmale angegebene Reaktionen mit der Koagulasereaktion überein,
2. Sind Unterschiede in den Reaktionen der Hackfleischstämme im Vergleich mit nachweislich vom Menschen stammenden Staphylokokken festzustellen.

Hinsichtlich der Übereinstimmung zwischen Eigelb- und Koagulasereaktion fiel auf, daß auf dem TPEY-Agar ein positives oder zumindest zweifelhaftes Ergebnis sich häufiger zeigte als auf dem KRANEP-Agar, und zwar bei koagulase-negativen ebenso wie bei koagulase-positiven Stämmen. Die Feststellung, daß nur 66,6% der koagulase-positiven Humanstämme eindeutig eigelb-positiv waren, stimmt mit den Angaben in der Literatur annähernd überein, wenn man berücksichtigt, daß 67% der Humanstämme penicillinresistent waren. In der Literatur wird von einem Anteil der eigelb-positiven bei den koagulase-positiven Staphylokokken berichtet, der bei etwa 80% liegt (Gillespie & Alder 1952, Alder et al. 1953, Hopton 1961, Meyer, W. 1966b, Pulverer 1966). Jedoch sind die penicillinresistenten Stämme überwiegend eigelb-negativ (Gillespie & Alder 1952, Meyer, W. & Rische 1960).

Die Antibiotikaresistenz der Lebensmittelstämme lag mit 68% empfindlichen Stämmen erheblich niedriger als die Resistenz der Krankenhausstämme, die nur zu 23% empfindlich gegen Antibiotika waren. Es fiel auf, daß eine Novobiocinresistenz nur bei koagulase-negativen Krankenhausstämmen, jedoch auch bei koagulase-positiven Lebensmittelstämmen auftrat. Ob hier ein Zusammenhang mit der Virulenz der Keime vorliegt, ist nicht geklärt. Jedenfalls konnte die Novobiocinresistenz als Charakteristikum koagulase-negativer Mikrokokken (Mitchel & Baird-Parker 1967) keineswegs in allen Fällen nachgewiesen werden.

In der Pigmentbildung zeigten Hackfleisch- und Krankenhausstämme keine auffälligen Unterschiede. Ein Zusammenhang zwischen Pigmentverlust und Antibiotikaresistenz, wie im Schrifttum beschrieben wurde (Graessle & Frost 1946), konnte nicht nachgewiesen werden, wenn auch der Anteil penicillinresistenter Stämme bei den unpigmentierten, koagulase-positiven Hackfleischstämmen etwas größer war, als bei den Hackfleischstaphylokokken insgesamt gesehen. Es wurde aber erneut bestätigt, daß die Pigmentbildung für sich allein als Pathogenitätsmerkmal nur geringe Bedeutung hat, da pathogene Stämme nicht selten eine Elfenbeinfarbe zeigen, die auch bei koagulase-negativen Stämmen häufig vorkommt.

Bei der Untersuchung der anaeroben Mannitspaltung bestätigt sich die Ansicht von Grün (1964b), daß auch die anaerobe Mannitspaltung keinen Ersatz für die Koagulasereaktion darstellt. Es fanden sich koagulase-negative Keime, die Mannit spalteten und koagulase-positive, die diese Fähigkeit nicht besaßen. Es fiel jedoch der bedeutend höhere Anteil an Staphylokokken mit negativer oder zweifelhafter Mannitreaktion bei den koagulase-positiven Hackfleischstämmen im Gegensatz zu den Humanstämmen auf.

Bei der Feststellung des Hämolysemusters zeigte sich als auffälligste Erscheinung das häufige Auftreten der β-Hämolyse bei den Hackfleisch- und bei den Humanstämmen. Während viele Autoren nur bei einem geringen Teil ihrer untersuchten Humanstämme eine β-Hämolyse feststellen konnten, fand Pulverer (1967) bei 55% seiner 1000 vom Menschen stammenden Staphylokokken eine β-Hämolyse. Christie & North (1941) wiesen bei 97 von 115 Humanstämmen neben der α-Hämolyse eine mehr oder weniger ausgeprägte β-Lysin-Bildung nach. Die β-Hämolyse ist anscheinend bei den Humanstämmen häufiger vertreten als meist angenommen wird. Die unterschiedlichen Ergebnisse mögen hauptsächlich darauf zurückzuführen sein, daß eine häufig sehr schwache β-Hämolyse, die auf der Hammelblutplatte nur als eine wenige Millimeter breite verfärbte Zone und als scharfer Rand der durch das α-Lysin verursachten Klärungszone in Erscheinung tritt, nicht als positiv bewertet wurde. In der schwachen β-Hämolyse findet auch das Auftreten fibrinolysierender und gleichzeitig β-Lysin bildender Stämme seine Erklärung. Gewöhnlich zeigen β-hämolysierende Staphylokokken keine Fibrinolyse (Christie & Wilson 1941, Rountree 1947). Jedoch ist es bekannt, daß bei Stämmen mit schwacher β-Hämolyse eine Fibrinolyse stattfinden kann (Christie & Wilson 1941, Christie et al. 1945). Das von Tomlinson & Parker (1956) berichtete seltene Auftreten gleichzeitig eigelb- und fibrinolysin-positiver Stämme konnte nicht beobachtet werden. Zusammenfassend lassen sich, soweit es die Bewertung der Pathogenitätsmerkmale bei den isolierten Stämmen betrifft, folgende Schlußfolgerungen ziehen: Bei allen untersuchten Reaktionen ist, wie nach den Angaben der Literatur zu erwarten war (Grün 1961, Pulverer 1966), die Übereinstimmung mit der Koagulasebildung unvollständig. Zur Isolierung von Staphylokokken ist die

Eigelbreaktion recht gut geeignet. Im Hackfleisch ist der Anteil an antibiotikaresistenten Stämmen, bei denen erfahrungsgemäß häufiger mit einem negativen Ausfall der Eigelbreaktion zu rechnen ist (Gillespie 1952, Parker 1958, Jessen et al. 1959b, Meyer, W. & Rische 1960) gering. Dementsprechend wird hier auch der Anteil an "falsch" eigelb-negativen Staphylokokken niedrig sein. Bei der Benutzung des TPEY-Agars ist im Gegensatz zum KRANEP-Agar eine größere Anzahl "falsch" positiver Ergebnisse in Kauf zu nehmen, d.h. der Anteil koagulase-negativer aber eigelb-positiver Stämme ist dort größer. In jedem Fall ist die Durchführung der Koagulasereaktion bei verdächtigen Stämmen notwendig.

Ein Unterschied zwischen den Krankenhaus- und Hackfleischstämmen wurde neben der unterschiedlichen Antibiotikaresistenz deutlich: Bei den eigelb-positiven Lebensmittelstaphylokokken fanden sich nämlich häufiger Stämme, deren übrige Pathogenitätsmerkmale weniger eindeutig ausgeprägt waren als bei Humanstämmen. Diese Abweichungen können ihre Ursache in der verhältnismäßig geringen Virulenz der Hackfleischstämme haben. Nach Pulverer (1963) ist die Reichhaltigkeit des Fermentspektrums ein Maß für die Virulenz des Stammes.

Eine Entscheidung, ob die Hackfleischstaphylokokken vom Menschen oder vom Tier stammen, ist auf Grund der hier angestellten Untersuchungen nicht mit Sicherheit möglich. Für einen tierischen Ursprung sollen folgende Kriterien bezeichnend sein: Antibiotikaempfindlichkeit, negative Eigelbreaktion, keine α - sondern nur β -Hämolyse und fehlende Fibrinolyse (Jay 1961, Meyer, W. 1966, Pulverer 1966). Das Kollektiv der Stämme aus dem Hackfleisch weist, abgesehen von der positiven Eigelbreaktion, nach der ausgewählt wurde, auch in den übrigen genannten Kriterien nur wenig Übereinstimmung auf.

Wenn man berücksichtigt, daß weniger virulente, vom Menschen stammende Staphylokokken auch überwiegend antibiotikaempfindlich sind, kann angenommen werden, daß der Mensch die Hauptquelle für eine Verunreinigung des Hackfleisches mit Staphylokokken darstellt, wenn auch eine Mitbeteiligung vom Tier stammender Keime gewiß nicht auszuschließen ist. Eine zweifelsfreie Klärung dieser epidemiologischen Fragen dürfte nur unter Zuhilfenahme weiterer diagnostischer Methoden, insbe-

sondere der Lysotypie, möglich sein.
Die Bestimmungen der Gesamtkeimzahlen zeigen, als Nebenbefund der vorliegenden Untersuchungen, daß die hygienische Beschaffenheit des in Berlin im Handel befindlichen Hackfleisches im ganzen gesehen recht gut ist. Es wurden bei 50% der Proben von Schabefleisch und Hackepeter und bei 25% der Proben von Gehacktem unter 1 Mill.keime/g festgestellt. Im Gegensatz zu anderen Autoren (Hempel 1963, Hess & Lott 1965), die bei einem höheren Prozentsatz ihrer Proben Keimzahlen über 100 Mill. feststellen konnten, trat dieser Fall bei meinen Untersuchungen nie auf. Die jahreszeitliche Schwankung der Keimzahlen war nicht so ausgeprägt wie bei Nieper (1964), es konnte jedoch ebenfalls ein Anstieg der Keimzahlen in der warmen Jahreszeit bemerkt werden. Sieht man von den Filialbetrieben ab, die vorverpacktes Hackfleisch anbieten, scheinen weder die Größe des Geschäftes noch die Wohngegend einen Einfluß auf die Beschaffenheit der Ware zu haben. Aus der Sauberkeit des Verkaufsraumes konnten ebenfalls keine Schlüsse auf die Höhe des Keimgehaltes der Proben gezogen werden.
Im Schrifttum werden vier Hauptursachen für eine stärkere Keimbesiedelung des Hackfleisches angegeben: Hoher Anfangskeimgehalt, verschmutzte Zerkleinerungsmaschinen, keimhaltige Zutaten und zu lange und zu warme Lagerung (Zeller & Beller 1930, Hempel 1964, Nieper 1964, Bartels et al. 1964).
Schlüsse auf den Zustand der Zerkleinerungsmaschinen lassen sich aus meinen Untersuchungen nicht ziehen. Eine stärkere Keimvermehrung durch die Lagerung scheint dank der besseren Kühleinrichtungen seltener aufzutreten; denn selbst kurz vor Ladenschluß gekauftes Fleisch wies gewöhnlich keinen höheren Keimgehalt auf, als solches, das am Morgen, also direkt nach der Herstellung, erworben wurde. Einen Hinweis auf den ungünstigen Einfluß, den die Verwendung kleinerer Fleischstücke bei der Herstellung von Hackfleisch auf den Keimgehalt ausübt, geben die verhältnismäßig hohen Keimzahlen im Gehackten, bei dessen Herstellung häufig ein gewisser Anteil von Fleischabschnitten verwendet wird.
Bei der Herstellung von Hackepeter werden dem Fleisch weitere Zutaten, wie Zwiebel, Salz und Pfeffer, zugesetzt. Auffällig ist, daß bei diesem Erzeugnis die Korrelation zwischen Gesamt-

Keimzahl und Mikrokokkengehalt geringer ist. Besonders bei höherem Gesamtkeimgehalt bleibt der Gehalt an Mikrokokken auffallend niedrig. Als Erklärung kann man annehmen, daß durch den Zusatz bakterienhaltiger Gewürze das Keimspektrum des Hackepeters sich stärker verschiebt.

Eine signifikante Korrelation zwischen pH-Wert und Gesamtkeimzahl konnte nicht nachgewiesen werden. Die Werte lagen beim Schabefleisch im Mittel bei 5,8, beim Gehackten bei 5,9 und beim Hackepeter bei 6,0. Der verhältnismäßig hohe pH-Wert des Hackepeters, der auch von Kraus & Streichan (1964) festgestellt wurde, erklärt sich durch den größeren Fettanteil, der bei diesem Produkt in Erscheinung tritt. Nur bei drei Proben, die alle über 10 Mill. Keime/g enthielten, wurde ein pH-Wert von über 6,4 gemessen. Bei den übrigen Proben mit ebenso hoher Keimzahl lag der pH-Wert jedoch nicht auffällig hoch. Da einige Autoren den Grenzwert für nicht beanstandetes Hackfleisch sogar bei 6,6 (Kruse 1964) und 6,8 (Toliopoulos 1966) ansetzen, jedoch andererseits Werte über 6,0 schon als Zeichen der Verderbnis angesehen werden (Bartels et al. 1964), kann der pH-Wert-Messung bei der Beurteilung der hygienischen Beschaffenheit von Hackfleisch wenig Bedeutung beigemessen werden. Liegt der pH-Wert über 6,5, ist zwar eine stärkere bakterielle Kontamination zu erwarten, niedrigere Werte schließen jedoch einen höheren Keimgehalt keineswegs aus. Ein auffällig niedriger Keimgehalt wurde bei vorverpacktem und bei tiefgefrorenem Hackfleisch gefunden: Es wurden in keinem Fall mehr als 5 Mill. Keime/g festgestellt. Der geringste Keimgehalt fand sich bei den tiefgefrorenen Produkten, von denen 26% Keimzahlen unter 100 000/g aufwiesen. Gegen den Verkauf von zentral hergestelltem, vorverpacktem Hackfleisch bestanden ursprünglich mancherlei Bedenken (Schönberg 1961, Schönberg & Könekamp 1962, Hepp 1962).

Heute wird das Fleisch vor dem Transport stark heruntergekühlt, es werden Kühlwagen verwendet und die Verkaufstresen auf Temperaturen unter 8°C gehalten. Bei zentraler Herstellung kann im übrigen der Gefahr sekundärer Verunreinigungen wirksam begegnet werden; denn ein großer Teil der Arbeiten, die in Einzelbetrieben mit der Hand vorgenommen werden müssen, kann in Großbetrieben maschinell ausgeführt werden, was offensichtlich

eine Verminderung des hygienischen Risikos bedeutet (Lienhop 1961). So scheint es erklärlich, daß vorverpacktes Hackfleisch gewöhnlich einen geringeren Keimgehalt hat als solches aus Fleischereien (Welz 1966). Auch bei den eigenen Untersuchungen scheinen die Gesamtkeimzahlen bei der vorverpackten Ware gegenüber dem lose verkauften Hackfleisch vermindert. Besonders ausgeprägt war dies bei dem Gefrierhackfleisch. Einige dieser Proben wiesen Keimzahlen von weniger als 100 000/g auf, was bei dem nicht gefrorenen Material in keinem Fall beobachtet wurde. Die Verminderung der Gesamtkeimzahl dürfte allerdings nicht nur durch die günstigen hygienischen Verhältnisse bei der Herstellung zu erklären sein, vielmehr ist zu berücksichtigen, daß auch beim Hackfleisch der Gefrierprozeß selbst und auch das anschließende Auftauen zu einer Verringerung des Keimgehaltes führen. Dabei können die Bakterien direkt absterben oder sie verfallen einem Kälteschock-Ruhestadium (dormancy) (Gißke et al. 1964). Ob durch das Gefrieren auch die Anzahl der koagulase-positiven Staphylokokken vermindert wird, läßt sich bei den vorliegenden geringen Funden nicht entscheiden. Jedenfalls zeigen die Befunde, daß auch im Gefrierhackfleisch mit dem Vorkommen dieser Keime gerechnet werden muß.

E: ZUSAMMENFASSUNG

57 Proben Schabefleisch, 39 Proben Hackfleisch (Gehacktes) und 32 Proben zubereitetes Hackfleisch (Hackepeter) wurden mit Hilfe des Kaliumrhodanid-Actidione-Natriumazid-Eigelb-Pyruvat-Agars (KRANEP) nach Sinell & Baumgart und des Tellurit-Polymyxin-Eigelb-Agars nach Crisley, Angelotti & Foter auf das Vorkommen von eigelb-positiven Staphylokokken untersucht. Zwischen Gesamtkeimzahl und Mikrokokkengehalt wurde eine signifikante Korrelation festgestellt, jedoch zeigte der Staphylokokkengehalt keine Beziehungen zu dem Gehalt an anderen Keimarten. Eigelb-positive Staphylokokken wurden auf dem KRANEP-Agar (bzw. TPEY-Agar) in 42,1 % (63,4 %) der Schabefleisch-, in 44 % (74,6 %) der Hackfleischproben und in 59,7 % (75 %) der Proben zubereiteten Hackfleisches festgestellt. Koagulase-positive Staphylokokken fanden sich auf dem KRANEP (bzw. TPEY)-Agar in 36,8 % (28,7 % der Schabefleischproben, in 38,9 % (45,8 % der Hackfleischproben und in 53,9 % (63,5 %) der Proben zubereiteten Hackfleisches.
Der überwiegende Teil der Proben wies Staphylokokkenzahlen bis zu 500 Keimen/g auf. Mehr als 1000 Staphylokokken/g enthielten nur 12 % der untersuchten Proben. In keinem Fall konnten so hohe Staphylokokkenzahlen nachgewiesen werden, daß eine Gesundheitsschädlichkeit des Fleisches hätte befürchtet werden müssen. Der Unterschied im Staphylokokkengehalt der einzelnen Hackfleischsorten erwies sich als nicht signifikant.

Aus dem Hackfleisch wurden 217 Stämme isoliert und in bezug auf ihre Hämolyse, Fibrinolyse, Eigelbreaktion, Pigmentbildung und Antibiotikaresistenz untersucht und mit 184 Krankenhausstämmen verglichen. Es zeigten sich außer der höheren Antibiotikaempfindlichkeit der Hackfleischstämme keine auffallenden Unterschiede. Der Mensch wird als Hauptquelle für die Kontamination des Hackfleisches mit Staphylokokken angesehen.

F: LITERATURVERZEICHNIS

1. Abo-Elnaga, I.G. u. O. Kandler: Zur Charakterisierung der in Milch verbreiteten Staphylokokken
   Zbl.Bakt.I Orig. 196, 438, 1965

2. Alder, V.G., W.A. Gillespie u. G. Herdan: Production of opacity in egg-yolk broth by staphylococci from various sources
   J.Path.Bact. 66, 205, 1953

3. Alder, V.G., W.A. Gillespie u. M.E.M. Thompson: Virulence and phage patterns of antibiotic-resistant staphylococci in a hospital
   J.Path.Bact. 70, 503, 1955

4. Anderson, K.: A survey of toxicity in staphylococci
   J.Clin.Path. 9, 257, 1956

5. Angyal, T.: Studies on the classification, pathogenicity and antigenic structure of staphylococci
   1. The occurence and pathogenicity of micrococcaceae
   Acta microbiol.Acad.sci.Hung. 8, 127, 1961

6. Baird-Parker, A.C.: An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci
   J.app.Bact. 25, 12, 1962

7. ders.: The occurrence and enumeration, according to a new classification, of micrococci and staphylococci in bacon and on human and pig skin
   J.appl.Bact. 25, 352, 1962

8. ders.: A classification of micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical tests
   J.Gen.Microbiol. 30, 409, 1963

9. ders.: The classification of staphylococci from world-wide sources
   J.Gen.Microbiol. 38, 363, 1965

10. Barber, M.: Coagulase positive staphylococci resistant to penicillin
    J.Path.Bact. 59, 373, 1947

11. Barber, M. u. J. Burston: Pigment production by staphylococci
J.Gen.Microbiol. 13, 338, 1955

12. dies.: Antibiotic-resistant staphylococcal infection. A study of antibiotic sensitivity in relation to bacteriophage types
Lancet 269, 578, 1955

13. Bartels, H., K. Gerigk u. R. Fleming: Vergleichende organoleptische und bakteriologische Untersuchungen an frischem und tiefgefrorenem Hackfleisch
Fleischwirtsch. 44, 968, 1964

14. Basille, D., I. Pantaleon u. P. Perron: Nachweis und Zählung pathogener Staphylokokken in Fleischerzeugnissen
Arch.Lebensmittelhyg. 16, 90, 1965

15. Bauer, A.W., D.M. Perry u. W.M.M. Kirby: Drug usage and antibiotic susceptibility of staphylococci
J.Amer.Med.Ass. 173, 475, 1960

16. Bekker, J.H.: Studies on staphylococci. II. Antistaphylocoagulase in human serum
Leeuwenhoek 13, 128, 1947

17. Birch-Hirschfeld, L.: Über die Agglutination von Staphylokokken durch Bestandteile des Säugetierblutplasmas
Klin.Wschr. 13, 331, 1934

18. Bischoff, J.: Über eine in Hamburg durch S.typhimurium hervorgerufene Lebensmittelvergiftung durch Rindfleisch aus einem Notschlachtungsbetrieb
Arch.Lebensmittelhyg. 7,217, 1956

19. Blair, J.E.: What is a staphylococcus ?
Bact.Rev. 26, 375, 1962

20. Böttcher, K.: Die Wirkung einiger Pilze auf den Eigelb-Komplex
Naturwiss. 47, 256, 1960

21. Brack, M.: Mikrokokken im Lebensmittelhandel unter besonderer Berücksichtigung der Stämme, die während eines Vierteljahres im Staatlichen Veterinäruntersuchungsamt Frankfurt aus Lebensmitteln gezüchtet wurden

22. Bransfield, P.E.: An outbreak of food poisoning probably due to staphylococcus aureus
Zbl.Bakt. I Ref. 107, 31, 1937

23. Breed, R.S., E.G.D. Murray u. N.R. Smith: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology
7.ed. Williams & Wilkins Baltimore, 1957

24. Bryce, L.M. u. P.M. Rountree: The production of beta-Toxin by staphylococci
J.Path.Bact. 43, 173, 1936

25. Burns, J. u. D.F. Holtman: Biochemical properties of virulent and avirulent staphylococci
Ann. N.Y.Acad.Sc. 88, 1115, 1960

26. Carter, C.H.: Egg yolk agar for isolation of coagulase positive staphylococci
J.Bact. 79, 753, 1960

27. Casman, E.P. u. R.W. Bennett: Detection of staphylococcal enterotoxin in food
Appl.Microbiol. 13, 181, 1965

28. Chapman, C.H.: Lysis of precipitated fibrinogen in agar medium by staphylococci
J.Bact. 43, 313, 1942

29. ders.: The significance of sodium chloride in studies of staphylococci
J.Bact. 50, 201, 1945

30. ders.: A single culture medium for selective isolation of plasma coagulating staphylococci and for improved testing of chromogenesis, plasma coagulation, mannitol fermentation and the Stone reaction
J.Bact. 53, 367, 1946

31. Chapman, C.H., C. Berens u. M.H. Stiles: The coagulation of plasma by staphylococci
J. Bact. 41, 431, 1941

32. Christie, R. u. E.A. North: Observations on staphylococcal β-toxin and its production by strains isolated from staphylococcal lesions in man
Austr.J.Exper.Biol. 19, 323, 1941

33. Christie, R. u. H. Wilson: A test of staphylococcal fibrinolysins
Austr.J.Exper.Biol. 19,329, 1941

34. Christie, R., N.E. Atkins u. E. Munch-Petersen: A note on a lytic phenomenon shown by group B streptococci
Austr.J.Exper.Biol. 22, 197, 1944

35. Christie, R., J.J. Graydon u. E.F. Woods: Staphylococcal fibrinolysin
Austr.J.Exper.Biol. 23, 127, 1945

36. Christie, R., E.A. North u. B.J. Parkin: Criteria of pathogenicity in staphylococci
Austr.J.Exper.Biol. 24, 73, 1946

37. Clapper, W.E. u. D.C. Wood: Comparison of three methods for the determination of coagulase activity in staphylococci
J.Bact. 67, 545, 1954

38. Clark, W.S., T.D. Moore u. F.E. Nelson: Characterization of coagulase-positive staphylococci isolated from raw milk
Appl.Microbiol. 9, 195, 1961

39. Cowan, S.T.: Specific epithet for the type species of staphylococcus
Internat.Bull.Bact.Nomencl.Taxon. 5, 133, 1955

40. ders.: An introduction to chaos, or the classification of micrococci and staphylococci
J.appl.Bact. 25, 324, 1962

41. Cowan, S.T. u. K.J. Steel: Comparison of differentiating criteria for staphylococci and micrococci
J.Bact. 88, 804, 1964

42. Crabtree, J.A. u. W. Litterer: Outbreak of milk poisoning due to a toxin-producing staphylococcus found in the udders of two cows
Amer.J.Publ.Health 24, 1116, 1934

43. Crisley, F.D., R. Angelotti u. M.J. Foter: Multiplication of staphylococcus aureus in synthetic cream fillings and pies
Publ.Health Rep. 79, 369, 1964

44. Crisley, F.D., J.T. Peeler u. R. Angelotti: Comparative evaluation of five selective and differential media for the detection and enumeration of coagulase-positive staphylococci in foods
Appl.Microbiol. 13, 140, 1965

45. Dack, M.: Food poisoning
3.ed.Univ.of Chicago, Chicago & London 1962

46. Darányi, J.: Infektionsmechanismus und Epidemiologie bei den Staphylokokken
Arch.Hyg. 139, 3, 1955

47. Deminson, G.A.: Epidemiology and symptomatology of staphylococcus food poisoning
Amer.J.Publ.Health 26, 1168, 1936

48. Donelly, C.B., L.A. Black u. K.H. Lewis: Occurence of coagulase-positive staphylococci in cheddar cheese
Appl.Microbiol. 12, 311, 1964

49. Duthie, E.S.: Evidence for two forms of staphylococcal coagulase
J.Gen.Microbiol. 10, 427, 1954

50. Edwards, S.J. u. G.W. Jones: The distribution and characters of coagulase-negative staphylococci of the bovine udder
J.Dairy Res. 33, 261, 1966

51. Ekstedt, R.D. u. W.W. Yotis: Studies on staphylococci
II. Effect of coagulase on the virulence of coagulase negative strains
J.Bact. 80, 496, 1960

52. Elek, St.D.: Staphylococcus pyogenes and its relation to disease
Livingstone, Edinburgh & London 1959

53. Elek, St.D. u. E. Levy: Distributions of haemolysins in pathogenic and non pathogenic staphylococci
J.Path.Bact. 62, 541, 1950

54. dies.: The nature of discrepancies between haemolysins in culture filtrates and plate haemolysin patterns of staphylococci
J.Path.Bact. 68, 31, 1954

55. Epstein, St.: Untersuchungen über die Unterscheidung der Staphylokokken bei den verschiedenen Staphylokokkenerkrankungen der Haut
Arch.Dermat.Syph. 170, 586, 1934

56. Evans, J.B.: Anaerobic fermentation of mannitol by staphylococci
J.Bact.54, 266, 1947

57. ders.: Studies of staphylococci with special reference to the coagulase-positive
J.Bact. 55, 793, 1948

58. Evans, J.B. u. C.F. Niven, Jr.: A comparative study of known food poisoning staphylococci and related varieties
J.Bact. 59, 545, 1950

59. Fairbrother, R.W.: Coagulase production as a criterion for the classification of staphylococci
J.Path.Bact. 50, 83, 1940

60. Farchim , G.: Zur Statistik der Fleischvergiftungen im Jahre 1949
Mhefte Vet.med. 5, 296, 1950

61. Feig, M.: Staphylococcal food poisoning
Amer.J.Publ.Health 40, 279, 1950

62. Feils, G.: Über die Pathogenität der in der Milch vorkommenden Staphylokokken
Arch.Lebensmittelhyg. 8, 33, 1957

63. Fink, G.: Vergleichende diagnostische Untersuchungen zur routinemäßigen Differenzierung pathogener und apathogener von Tieren stammender Staphylokokken
Vet.med.Diss. München 1961

64. Fischer, H.G.: Die Häufigkeit penicillinresistenter Staphylokokken
Dtsch.med.Wschr. 84, 257, 1959

65. Fisher, A.M.: The fibrinolytic properties of staphylococci
Johns Hopk.Hosp.Bull. 59, 415, 1936

66. Fisk, A.: The technique of the koagulase test for staphylococci
Brit.J.Exper.Path. 21, 311, 1940

67. Flis, J., E. Lenkiewcz u. L. Lojkiewicz: Das Vorkommen enterotoxischer Staphylokokkenstämme im Bindehautsack des menschlichen Auges
Arch.Lebensmittelhyg. 17, 156, 1966

68. Fraser, G.: Studies of staphylococci of canine origin with particular reference to the nature and distribution of their haemolysins
Res.Vet.Sc. 5, 365, 1964

69. Galton, M.M. u. J.H. Steele: Laboratory and epidemiological aspects of foodborne diseases
J.Milk Food Technol. 24, 104, 1961

70. Gedek, W.: Zur Lysotypie in Milch vorkommender Staphylokokken
Arch.Lebensmittelhyg. 12, 265, 1966

71. Geiger, J.C., A.B. Crawles u. J.P. Gray: Food poisoning from ice-cream on ships
Zbl.Bakt.I Ref. 121, 523, 1936

72. Gerheim, E.B.: Staphylococcal coagulation and fibrinolysis
Nature 162, 732, 1948

73. Ghoneim, N.A.M.: Über Bakteriengehalt und pH-Werte in Fleischproben, Hackfleisch, Brägenwurst, Leberwurst und Eiprodukten
Vet.med.Diss. Hannover 1964

74. Gillespie, E.H., E.A. Devenish u. S.T. Cowan: Pathogenic staphylococci. Their incidence in the nose and on the skin
Lancet , 870, 1939

75. Gillespie, W.A. u. V.G. Alder: Production of opacity in egg-yolk media by coagulase-positive staphylococci
J.Path.Bact. 64, 187, 1952

76. dies.: Control of an outbreak of staphylococcal infection in a hospital
Lancet 272, 632, 1957

77. Gillespie, W.A. u. P.M. Simpson: Detection of α -lysin production on rabbit- and sheep-blood-agar plates
Brit.Med.J., S. 902, 1948 II

78. Gißke, W., K. Coretti u. F. Bozkurt: Gefrierhackfleisch in hygienischer Sicht
Fleischwirtsch. 44, 747, 1964

79. Glenny, A.T. u. M.F. Stevens: Staphylococcal toxins and antitoxins
J.Path.Bact. 40, 201, 1935

80. Graessle, O.E. u. B.M. Frost: Induced in vitro resistance of staphylococci to Streptomycin and Penicillin
Proc.Soc.Exper.Biol.Med. 63, 171, 1946

81. Grün, L.: III Alte und neue Probleme der Staphylokokken
Ergeb.Mikrobiol. 31, 130, 1958

82. ders.: Die biochemischen Eigenschaften der Staphylokokken im Hinblick auf Pathogenitätsbestimmung und Differenzierung der Keime zur Erkennung des Staphylokokkenhospitalismus
Westdtsch.Verl. Köln & Opladen 1961 (Forschungsber.d.Landes Nordrhein-Westf. Nr. 1049)

83. ders.: Staphylokokken in Klinik und Praxis
Wiss. Verl.ges., Stuttgart 1964

84. ders.: Die Mannitspaltung pathogener und apathogener Staphylokokken unter aeroben und anaeroben Bedingungen
Zschr.Hyg. 150, 234, 1964

85. Guthof, O.: Ein einfacher Routinetest für die Gruppendifferenzierung von Streptokokken
Zbl.Bakt. I Orig. 183, 59, 1961

86. Hammer, D.: Mikrokokkenmastitis der Ziege als Ursache einer Gruppenerkrankung beim Menschen
Arch.Lebensmittelhyg. 7, 152, 1956

87. Hempel, H.: Über geeignete Methoden zur Untersuchung von Hackfleisch, Hackepeter und Schabefleisch in Veterinäruntersuchungs- und Tiergesundheitsämtern und die derzeitige Beschaffenheit dieser Lebensmittel
Vet.med.Diss.Berlin,Humboldt.Univ. 1963

88. Hepp, L.: Hackfleischherstellung und Hackfleischverkauf
Fleischwirtsch. 42, 111, 1962

89. Hess, E. u. G. Lott: Die Zerkleinerung des Fleisches, ein haltbarkeitsmindernder Faktor
Arch. Lebensmittelhyg. 12, 265, 1965

90. Hinton, N.A. u. J.H. Orr: The distribution of toxins in coagulase-positive staphylococci isolated from infections and carriers
J.lab.clin.med. 50, 901, 1957

91. Hobbs, B.C.: Public health problems associated with the manufacture of dried milk. I. Staphylococcal food poisoning
J.appl.Bact. 18, 484, 1955

92. Hoeprich, P.D., G.F. Croft u. L.M. West: Tellurit reduction as an indicator of potentially pathogenic staphylococci
J.Laborat.Clin.Med. 55, 120, 1960

93. Hoffmann, G.: Funde von Staphylokokken in Fleisch- und Wurstwaren
Mhefte Vet.med. 18, 952, 1963

94. Hopton, J.: A selective medium for the isolation and enumeration of coagulase positive staphylococci from foods
J.appl.Bact. 24, 121, 1961

95. Hultsch, M.: Versuch zur Isolierung von Pseudomonasstämmen aus Lebensmittelprodukten
Mhefte Vet.med. 17, 786, 1962

96. Innes, A.G.: Tellurite-egg-agar, a selective and differential medium for the isolation of coagulase positive staphylococci
J.appl.Bact. 23, 108, 1960

97. Jacherts, D.: Bakterienphysiologische Grundlagen des Hospitalismus
Dtsch.med.Wschr. 86, 2116, 1961

98. Jay, J.M.: Some characteristics of coagulase-positive staphylococci from market meats relative to their origins into the meats
Food Sc. 26, 631, 1961

99. ders.: Further studies on staphylococci in meats. III Occurence and characteristics of coagulase-positive strains from a variety of nonfrozen market cuts

Appl.Microbiol. 10, 247, 1962

100. ders.: Further studies on staphylococci in meats. IV The bacteriophage pattern and antibiotic sensitivity of isolates from nonfrozen meats

Appl.Microbiol. 10, 252, 1962

101. Jedličkova-Beštáková, Z.: Beitrag zur Wirkung verschiedener gerinnungshemmender Stoffe beim Koagulasetest

Zbl.Bakt. I Orig. 178, 304, 1960

102. Jeffries, Ch. D.: Comparison of six physiologic characteristics of staphylococci from laboratory specimens

Amer.J.Clin.Path. 36, 114, 1961

103. Jessen, O. et al.: Some properties of staphylococcus aureus, possibly related to pathogenicity. I A study of 446 strains from different types of human infection

Acta path.microbiol.Scand. 47, 316, 1959

104. dies.: Some properties of staphylococcus aureus, possibly related to pathogenicity. II In-vitro properties e. Origin of the infection strains correlated to mortality in 190 patients with staphylococcus aureus bacteremia

Acta path.microbiol.Scand. 47, 327, 1959

105. Kaffka, A.: Erfahrungen mit einfachen Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Hyaluronidase, Fibrinolysin und Phosphatase bei Staphylokokken

Zbl.Bakt. I Orig. 168, 381, 1957

106. Kampelmacher, E.H. et al.: Studies on salmonella in slaughterhouses

Zbl.Vet.med. 8, 1025, 1961

107. Kielwein, G.: Die Ermittlung euterpathogener Staphylokokken

Zbl.Bakt. I Orig. 178, 434, 1960

108. Krentz, A.: Die enteralen Staphylokokken-Infektionen des Kindes
Karger, Basel & New York 1962 (Bibliotheca microbiologica 2.)

109. Kikuth, W. u. L. Grün: Zur Hygiene und Bakteriologie des Staphylokokken-Hospitalismus
Dtsch.med.Wschr. 82, 549, 1957

110. Kirby, W.M.M.: Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin-resistent staphylococci
Science 99, 452, 1944

111. Kendereszi, S.: Nahrungsmittelvergiftungen, mit besonderer Berücksichtigung von Vergiftungen, die durch Staphylokokken verursacht werden
Schlacht-Viehhofztg. 59, 46, 1959

112. Klatt, C.H.: Koagulasförsök med citratplasma från människa, och olika husdjur vid mastitstafylokockdiagnostiseringen
Nord.vet.med. 6, 303, 1954

113. Klinge, K.: Die Eigelbreaktion und die Wirkung von Mikroorganismen auf den Eigelbkomplex
Arch.Hyg. 141, 334, 1957

114. Klink, A.: Über die Bedeutung des Bact.proteus für die tierärztliche Lebensmittelkunde
Vet.med.Diss. Gießen 1950

115. Kodama, T., Masayo, H. u. Yosi, S.: An outbreak oi food poisoning in Yokosuka city
Zbl.Bakt. I Ref. 140, 68, 1941

116. Kraus, H. u. Streichan, D.: Untersuchungen zur Haltbarkeit von Hackfleisch
Arch.Lebensmittelhyg. 15, 229, 1964

117. Kruse, K.P.: Über die Veränderungen des bakteriellen Keimgehaltes von frischem und gefrostetem Hackfleisch
Vet.med.Diss. Hannover 1964

118. Kuppelmayr: Zur Kasuistik der Fleischvergiftungen
Zschr.Fleisch-Milchhyg. 34, 181, 194 u. 213, 1924

119. Lack, C.H.: Staphylokinase: an activator of plasmaprotease
Nature 161, 559, 1948

120. Lack, C.H. u. D.G. Wolfling: A study of 435 strains of staphylococcus pyogenes with reference to factors which may contribute to pathogenicity
J.Path.Bact. 68, 431, 1954

121. Laurell, G. u. H. Toth-Gyulai: A study of pathogenicity of staphylococcus aureus isolated from dust and hospital environment
Acta path.Microbiol.Scand. 53, 393, 1961

122. Legler, F., F. Burkhardt u. W. Wundrich: Staphylococcus aureus in Camembert-Käse als Ursache einer Lebensmittelvergiftung
Öff.Gesd.dienst 19, 198, 1957

123. Lienhop, E.: Verkauf von Hackfleisch unter Berücksichtigung moderner Herstellungs- und Verkaufsmöglichkeiten
Arch.Lebensmittelhyg. 12, 146, 1961

124. Linzenmaier, G.: Zur Antibiotika- und Sulfonamid-Empfindlichkeit einiger praktisch wichtiger Bakterien
Dtsch.med.Wschr. 81, 965, 1956

125. ders.: Zur Bewertung einer vereinfachten Hemmhofmethode
Zbl.Bakt. I Orig. 167, 327, 1956

126. ders.: Die Resistenzbestimmung, Indikation, Fehlerquellen und Leistungsfähigkeit
Dtsch.med.Wschr. 84, 1002, 1959

127. Lominski, I. u. G.B.S. Roberts: A substance in human serum inhibiting staphylocoagulase
J.Path.Bact. 58, 187, 1946

128. Lominski, I. et al.: Immunisation against experimental staphylococcal infection with coagulase rich preparations
Lancet S. 1315, 1962 II

129. Lorenzen, P.: Die Überwachung des Verkehrs mit Hackfleisch
Arch.Lebensmittelhyg. 11, 52, 1960

130. Lott, G.: Untersuchungen über die Keimvermehrung im Hackfleisch
Vet.med.Diss. Zürich 1966

131. Ludlam, G.B.: A selective medium for the isolation of staphylococcus aureus from heavily contaminated material
Monthly Bull.Min.Health 8, 15, 1949

132. Lütje, F.: Lebensmittelvergiftung, verursacht durch den Staph.aureus hämolyticus
Lebensmitteltierarzt 2, 49, 1951

133. Madison, R.R.: Fibrinolytic staphylococci
Proc.Soc.Exper.Biol.Med. 33, 209, 1935/36

134. Mann, P.H.: Bacteriophage typing of staphylococci isolated from animals
Canad.J.Publ.Health 51, 153, 1960

135. Marica, D. et al.: Beitrag zur Anwendung von Bakteriophagen humanen Ursprungs zur Typenbestimmung von Rinderstaphylokokken
Berl.Münch.tierärztl.Wschr. 80, 87, 1967

136. Marks, J.: Recognition of pathogenic staphylococci with notes an non-specific staphylococcal haemolysin
J.Path.Bact. 64, 175, 1952

137. Marks, J. u. A.C.T. Vougham: Staphylococcal delta-haemolysin
J.Path.Bact. 62, 597, 1950

138. Marwin, R.M.: Use of tellurit-glycine agar in the detection and isolation of pathogenic staphylococci
Amer.J.Clin.Path. 30, 470, 1958

139. Messer, J.: Beitrag zur Differenzierung in Milch vorkommender Staphylokokken
Vet.med.Diss. Gießen 1961

140. Meyer, K.F.: Food poisoning
N.England J.Med. 249, 765 u. 773, 1953

141. Meyer, R.: Zur Statistik der Fleischvergiftungen in den Jahren 1933 bis 1934
Zschr.Fleisch-Milchhyg. 46, 62, 1935

142. Meyer, R.: Zur Statistik der Fleischvergiftungen im Jahre 1938
Zschr.Fleisch-Milchhyg. 50, 27, 1939

143. ders.: Zur Statistik der Fleischvergiftungen im Jahre 1939 ... 1940
Zschr.Fleisch-Milchhyg. 51, 16 u. 301, 1940/41

144. ders.: Zur Statistik der Fleischvergiftungen im Jahre 1941
Zschr.Fleisch-Milchhyg. 53, 11, 1942

145. ders.: Zur Statistik der Fleischvergiftungen in den Jahren 1943 - 1947
Mhefte Vet.med. 3, 205, 1948

146. Meyer, W.: Die Staphylokokkenerkrankungen des Menschen
Barth, Leipzig 1962
(Beiträge zur Hygiene u. Epidemiologie 15.)

147. ders.: Über die Brauchbarkeit des koagulasetestes mit verschiedenen Plasmaarten zur Differenzierung von Staphylococcus aureus-Stämmen
Zbl.Bakt. I Orig. 201, 331, 1966

148. ders.: Differenzierungsschema für Standortvarianten von Staphylococcus aureus
Zbl.Bakt. I Orig. 201, 465, 1966

149. Meyer, W. u. H. Rische: Epidemiologische Betrachtungen zur Variabilität von Staph.aureus
Zbl.Bakt. I Orig. 178, 156, 1960

150. Milch, H., E. Kalmán u. P. Baranyai: Beobachtungen über die Beziehungen zwischen Pathogenität und Phagenbild von Staphylokokken-Stämmen aus dem Material eines Kinderkrankenhauses
Zbl.Bakt. 1 Orig. 183, 325, 1961

151. Millian, St.J. et al.: Studies on the incidence of coagulase-positive staphylococci in a normal unconfined population
Amer.J.Publ.Health 50, 791, 1960

152. Mitchell, R.G. u. A.C. Baird-Parker: Novobiocin resistance and the classification of staphylococci and micrococci
J.appl.Bact. 30, 251, 1967

153. Möse, J.: Über die Möglichkeiten des serologischen Nachweises von Staphylokokkenerkrankungen, mit besonderer Berücksichtigung der Plasmakoagulation
Arch.Hyg. 132, 103, 1950

154. Möse, J. u. O. Laurentschitsch: Studium des Gerinnungsvorganges bei der staphylogenen Plasmakoagulation
Arch. Hyg. 132, 122, 1950

155. Morgan, F.G. u. J.J. Graydon: Toxins of the staphylococcus, with special reference to the estimation of potency
J.Path.Bact. 43, 385, 1936

156. Morrison, R.B.: The coagulase test in the identification of pathogenic staphylococci
J.appl.Bact. 25, 432, 1962

157. Moser, L.: Über bakterielle Lebensmittelvergiftungen
Dtsch.med.Wschr. 78, 1762, 1953

158. Moser, L. u. G. Mumme: Lebensmittelvergiftungen durch enterotoxinbildende Staphylokokken
Münch.med.Wschr. 96, 226, 1954

159. Mossel, D.A.A.: Aufgaben und Durchführung der modernen, hygienisch-bakteriologischen Lebensmittelüberwachung
Wien.tierärztl.Mschr. 43, 321 u. 596, 1956

160. Much, H.: Über eine Vorstufe des Fibrinfermentes in Kulturen von Staphylokokkus aureus
Biochem.Zschr. 14, 143, 1908

161. Munch-Petersen, E. u. R. Christie: On the effect of the interaction of staphylococcal beta-toxin and group B streptococcal substance on red blood corpuscels and its use as a test for the identification of streptococcus agalactiae
J.Path.Bact. 59, 367, 1947

162. Munch-Petersen, E. u. C. Boundy: Yearly incidence of penicillin-resistant staphylococci in man since 1942
Bull.World Health Organ. 26, 241, 1962

163. Nieder, A.: Über das Vorkommen von Bakterien der Paratyphusgruppe in Marktproben von Hackfleisch und Milch, zugleich ein Beitrag zur Trennung der Typen

Vet.med.Diss. Leipzig 1925

164. Nieper, L.: Zum Keimgehalt des Schabefleisches und Hackfleisches unter besonderer Berücksichtigung der aeroben Sporenbildner, insbesondere B.cereus

Vet.med.Diss. Hannover 1964

165. Nussbaumer, H.: Bakteriologische Untersuchungen über den Keimgehalt von Wurstwaren und Gewürzen

Vet.med.Diss. Bern 1956

166. Obiger, G.: Zur Frage der milchhygienischen Bedeutung der Staphylokokken

Arch.Lebensmittelhyg. 11, 266, 1960

167. Oehring, H. u. G. Funk: Vergleichende Untersuchung zur Toxinbildung von sensiblen und resistenten Staphylokokken

Arch.Hyg. 145, 376, 1961

168. Ortel, S.: Über die Penicillinresistenz der Staphylokokken

Zbl.Bakt. I Orig. 162, 187, 1955

169. ders.: Lysotypie von Staph.aureus zur Klärung epidemiologischer Zusammenhänge bei durch Fischkonserven hervorgerufenen Staphylokokken-Nahrungsmittelvergiftungen

Zbl.Bakt. I Ref. 167, 6, 1958

170. Otte, H.J. u. O. Walter: Zum Mechanismus der staphylogenen Plasmakoagulation

Zbl.Bakt. I Orig. 164, 601, 1955

171. Page, A.I.: The epidemiology of penicillin-resistant staphylococci in a rural community

Amer.J.Publ.Health 52, 1302, 1962

172. Parker, M.T.: Some cultural characteristics of staphylococcus aureus strains from superficial skin infections

J.Hyg. 56, 238, 1958

173. Peter, H.: Ergebnisse von bakteriologischen Resistenzprüfungen in den Jahren 1953-1958
Med.Welt S. 1100, 1960

174. Philipp, H.-J.: Zur Feststellung von Staphylokokken bei Schlachtschweinen und Wege zur Verhütung des Befalls mit diesen Mikroorganismen
Vet.med.Diss. Hannover 1965

175. Pikkarainen, J.: Über Nahrungsmittelvergiftungen, verursacht durch Staph.aureus
Zbl.Bakt. I Orig. 143, 60, 1938

176. Pöhn, H.Ph.: Zur Differenzierung von Staphylokokken
Zschr.Immunit.forsch. 116, 92, 1959

177. Pohja, M.S.: Micrococci in fermented meat products
Kirjapaino, Hämeenlinna 1960

178. Poscich, P.: Beitrag zu den Hämolysinen pyogener Mikrokokken verschiedener Herkunft
Vet.med.Diss. Gießen 1957

178. Pulverer, G.: Pathogene Staphylokokken bei Mensch und Tier sowie im Freiland
Med.Habil.-Schr. Köln 1963

180. ders.: Vergleich pathogener Staphylokokken von Mensch und Tier
Zbl.Bakt. I Orig. 201, 27, 1966

181. Pulverer, G. u. H. Entel: Physiologisches Vorkommen koagulase-positiver Staphylokokken im Tierreich
Zbl.Bakt. I Orig. 202, 344, 1967

182. Rahn, O.: Contributions to the classification of bacteria
Zbl.Bact. II 78, 1, 1929

183. Rammelkamp, C.H., Hezebicks, M.M. u. J.H. Dingle: Specific coagulase of staphylococcus aureus
J.Exper.Med. 91, 295, 1950

184. Rittmeyer, H.: Kurzer Beitrag über das Vorkommen von Staphylokokken in Vorzugsmilch
Arch.Lebensmittelhyg. 15, 223, 1964

185. Roemer, G.B. u. B. Schmitz: Untersuchungen über die Eignung verschiedener Methoden zur Differenzierung pathogener und apathogener Staphylokokken unter besonderer Berücksichtigung der Plasmaagglutination, Glukosamin- und Harnstoffspaltung

Arch.Hyg. 135, 274, 1951

186. Rountree, Ph.M.: Some observations on fibrinolysin and beta-toxin of staphylococci

Austr.J.Exper.Biol. 25, 359, 1947

187. Rountree, Ph.M. u. E.F. Thomson: Incidence of antibiotic-resistant staphylococci in a hospital

Lancet 262, 262, 1952

188. Schaack, G.: Die Differenzierung von pyogenen Staphylokokken unter Verwendung von Schwermetall und Zuckernährböden

Zbl.Bakt. 1 Orig. 162, 167, 1955

189. Schaub, I.G. u. Ch.D. Merritt: The identification of staphylococcus aureus. A method for the determination of coagulase production and mannitol fermentation in a single medium

Johns Hopkins Hosp.Bull. 106, 25, 1960

190. Schmidt, J.: Untersuchungen über Staphylokokkendoppelinfektionen

Zbl.Bakt. I Orig. 185, 41, 1962

191. Schmidt, J. u. H. Spitzbart: Mikrobiologische und epidemiologische Untersuchungen über den Staphylokokkenhospitalismus

Arch.Hyg. 146, 70, 1963

192. Schönberg, F.: Einige Gedanken zur Hackfleischverordnung

Arch.Lebensmittelhyg. 12, 261, 1961

193. ders.: Bakterielle Lebensmittelvergiftungen, ihre Ursachen und Verhütung

Arch.Lebensmittelhyg. 13, 94, 1962

194. Schönberg, F. u. R. Könekamp: Zur Temperaturabhängigkeit der Proteolyse durch psychrotolerante Bakterien, insbesondere Pseudomonas fluorescens liquefaciens, gleichzeitig ein Beitrag zur Haltbarkeit von verpacktem und gekühltem Hackfleisch

Arch.Lebensmittelhyg. 13, 160, 1962

195. Schultze, F.-D.: Typenbestimmung von Staphylococcus aureus aus Rinderherden mit hoher Mastitisfrequenz
Vet.med.Diss. München 1967

196. Seidel, G., K. Janeck u. G. Hoffmann: Über eine nach Genuß von Speiseeis aufgetretene durch Staphylococcus aureus verursachte Intoxikation
Mhefte Vet.med. 17, 782, 1962

197. Shah, D.B. u. J.B. Wilson: Egg yolk factor of staphylococcus aureus. I. Nature of the substrate and enzyme involved in the egg yolk opacity reaction
J.Bact. 85, 516, 1963

198. dies.: Egg yolk factor of staphylococcus aureus. II. Characterization of the lipase activity
J.Bact. 89, 949, 1965

199. Shaw, C., J.M. Stitt u. S.T. Cowan: Staphylococci and their classification
J.Gen.Microbiol. 5, 1010, 1951

200. Sinell, H.J. u. J. Baumgart: Selektivnährböden zur Isolierung von Staphylokokken aus Lebensmitteln
Zbl.Bakt. I Orig. 197, 447, 1965

201. dies.: Selektivnährböden mit Eigelb zur Isolierung von pathogenen Staphylokokken aus Lebensmitteln
Zbl.Bakt. I Orig. 204, 248, 1967

202. Smith, H.W.: The examination of staphylococci of animal origin with particular regard to the determination of criteria of pathogenicity
J.Comp.Path. 57, 98, 1947

203. ders.: The pathogenicity and haemolytic properties of staphylococci isolated from chickens
J.Path.Bact. 67, 73, 1954

204. ders.: Experimental staphylococcal infection in chickens
J.Path.Bact. 67, 81, 1954

205. Smith, J.E.: Characteristics of staphylococci from the nose of healthy dogs
J.Comp.Path. 72, 131, 1962

206. Smith, M.L. u. S.A. Price: Staphylococcus gamma-haemolysin
J.Path.Bact. 47, 379, 1938

207. Smith, W., J.H. Hale u. M.M. Smith: The role of coagulase in staphylococcal infections
Brit.J.Exper.Path. 28, 57, 1947

208. Solomon, J.J. u. C. San Clemente: Some physiological characteristics of two sets of phage-propagatin strains of staphylococcus aureus
Appl.Microbiol. 11, 36, 1963

209. Stehle, A.: Zur hygienischen Beschaffenheit von vorverpacktem und zubereitetem Hackfleisch
Vet.med.Diss. München 1964

210. Steuer, W.: Untersuchung über die Pigmentbildung von Micrococcus pyogenes
Zbl.Bakt. I Orig. 167, 210, 1956

211. ders.: Die Bedeutung verschiedener Umwelteinflüsse auf die Zusammensetzung des Gesamtpigmentes von Micrococcus pyogenes
Zbl.Bakt. I Orig. 168, 558, 1957

212. Steward, E.E. u. F.C. Kelley: Variation of bound coagulase of staphylococcus aureus
J.Bact. 77, 101, 1959

213. St. George, Ch., K.E. Russel u. J.B. Wilson: Characteristics of staphylococci from bovine milk
J.infect.Dis. 110, 75, 1962

214. Tillet, W.S. u. R.C. Garner: The fibrinolytic activity of haemolytic streptococci
J.Exper.Med. 58, 485, 1933

215. Toliopoulos, J.M.: Zur hygienischen Beurteilung von Hackfleisch
Vet.med.Diss. München 1966

216. Tomlinson, A.J. u. M.T. Parker: Production of opacity on serum agar plates by some strains of staphylococcus aureus
Nature 177, 895, 1956

217. Wallace, G.D. et al.: Bacteriophage type 80/81 staphylococcal infection in human beings associated with mastitis in dairy cattle
Amer.J.Publ.Health 52, 1309, 1962

218. Weber, E.: Grundriß der biologischen Statistik
Fischer, Jena 1957

219. Weed, L.A., A.C. Michael u. R.N. Harger: Fatal staphylococcus intoxication from goat milk
Amer.J.Publ.Health 33, 1314, 1943

220. Weinhold, E.: Untersuchung über vom Tier stammende Staphylokokken unter besonderer Berücksichtigung ihrer Pathogenität
Zbl.Vet.med. 6, 90, 1959

221. Weiß, D.: Differenzierung und Pathogenitätsprüfung an Staphylokokken, die aus Dosenschinken gezüchtet wurden
Vet.med.Diss. FU Berlin 1958

222. Welz, W.: Vergleichende mikrobiologische Untersuchungen an gefrorenem, losem und portioniertem Hackfleisch des Handels
Fleischwirtsch. 46, 1331, 1966

223. White, F. u. I. Mc Donald: Some observations on an outbreak of staphylococcal mastitis in a dairy herd
J.Comp.Path. 71, 159, 1961

224. White, P.J., P. Carson u. G.N. Cooper: Report on an outbreak of staphylococcal food poisoning due to imported frozen fish
Med.J.Australia 51, 845, 1964

225. Wiidik, R.W.: Zur Bakteriologie der Staphylokokkenmastitis
Berl.Münch.tierärztl.Wschr. 67, 133, 1954

226. Williams, R.E.O. u. G.J. Harper: Staphylococcal haemolysins on sheep-blood agar with evidence for a fourth haemolysin
J.Path.Bact. 59, 69, 1947

227. Willis, A.T., S.I. Jacobs u. G.M. Goodburn: Pigment production, enzymatic activity and antibiotic sensitivity of staphylococci; subdivision of the pathogenic groups
J.Path.Bact. 87, 157, 1964

228. Winkle, S. u. R. Rohde: Diagnostische und epidemiologische Erfahrungen aus dem Tätigkeitsbereich der Hamburger Salmonellenzentrale
Arch.Hyg. 148, 388, 1964

229. Worseck, M.: Staphylokokken als Ursache von Lebensmittelvergiftungen und eigene Untersuchungen über die Toxidität von Mastitis-Staphylokokken

Arch.Lebensmittelhyg. 7, 145, 1956

230. Worseck, M. u. H. Fiebig: Untersuchungen über Staphylokokken vom Schwein

Zbl.Bakt. I Orig. 196, 456, 1965

231. Wurter, R.L. u. M.M. Galton: Animal staphylococcal infections and their public health significance

Amer.J.Publ.Health 52, 1818, 1962

232. Zebowitz, E., J.B. Evans u. C.F. Niven: Tellurite glycine agar: a selective medium for the quantitative detection of coagulase-positive staphylococci

J.Bact. 70, 686, 1955

233. Zeller, H. u. K. Beller: Die Keimvermehrung in Fleisch und Hackfleisch unter verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen

Zschr.Fleisch-Milchhyg. 40, 245, 1930

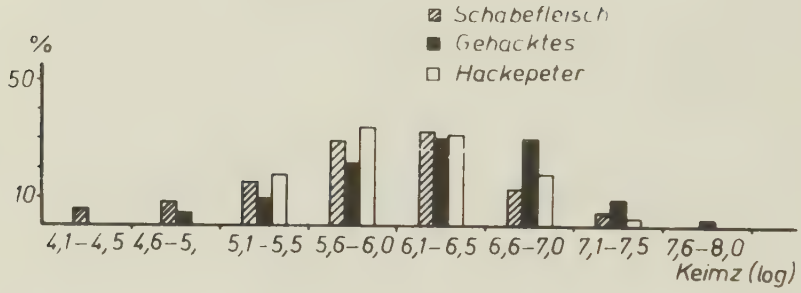
234. Zemelman, R. u. L. Longeri: Characterization of staphylococci isolated from raw milk

Appl.Microbiol. 13, 167, 1965

ANHANG : ABBILDUNGEN

Abb 1 Verteilung der Keimzahlen

Gesamtkeimzahl



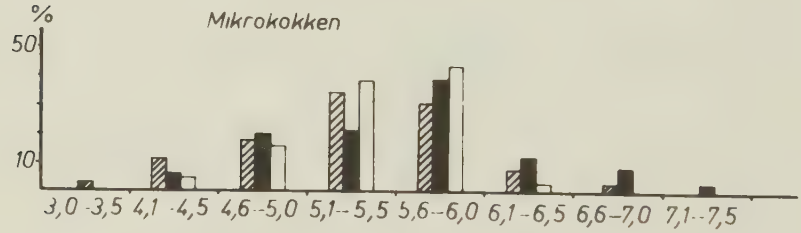


Abb. 2 Abhängigkeit des Keimgehaltes von der Jahreszeit

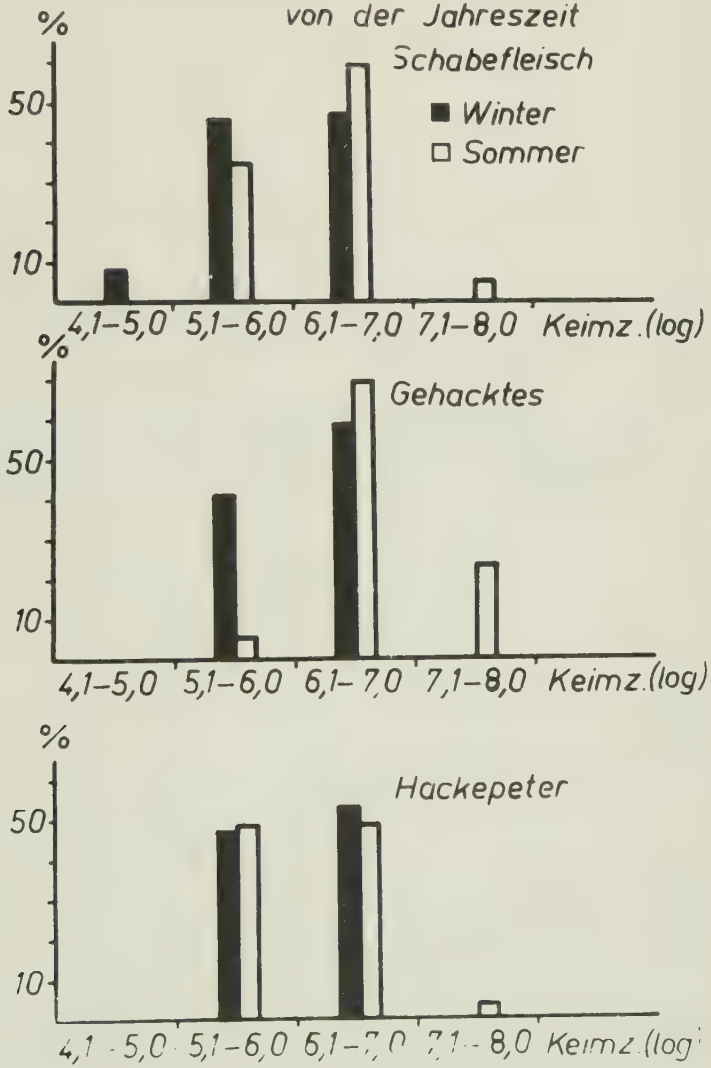


Abb 3a Schabefleisch

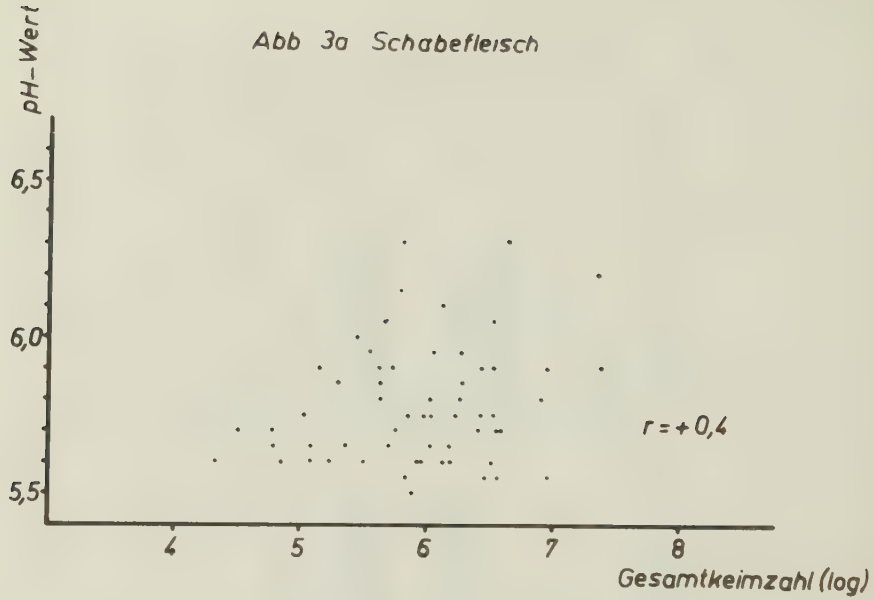


Abb. 3b Gehacktes

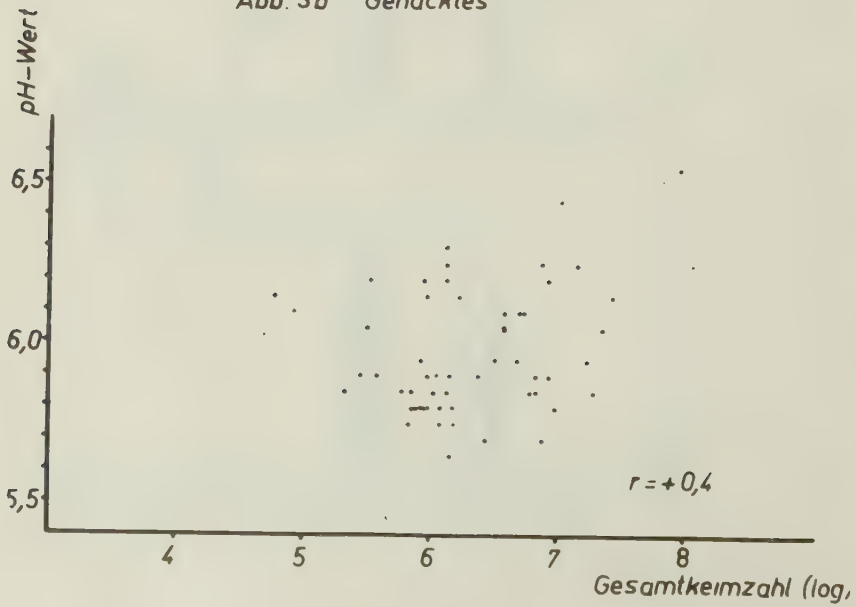


Abb. 3c Hackepeter

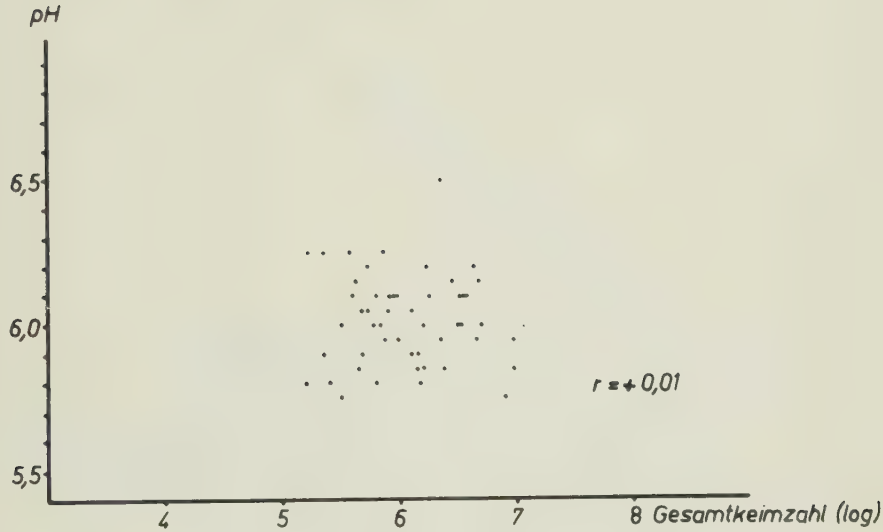


Abb. 4a Schabefleisch

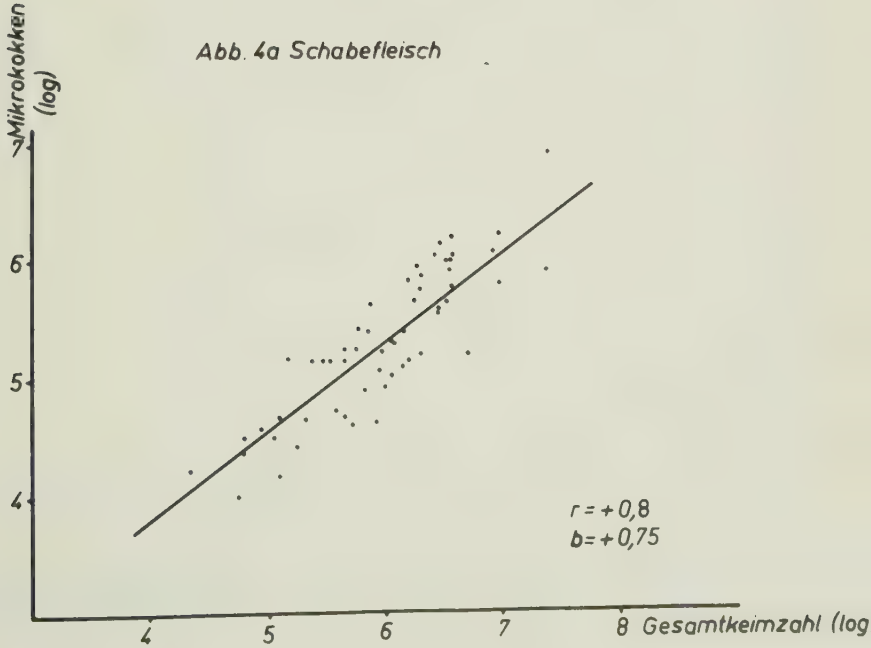


Abb 4b Gehacktes

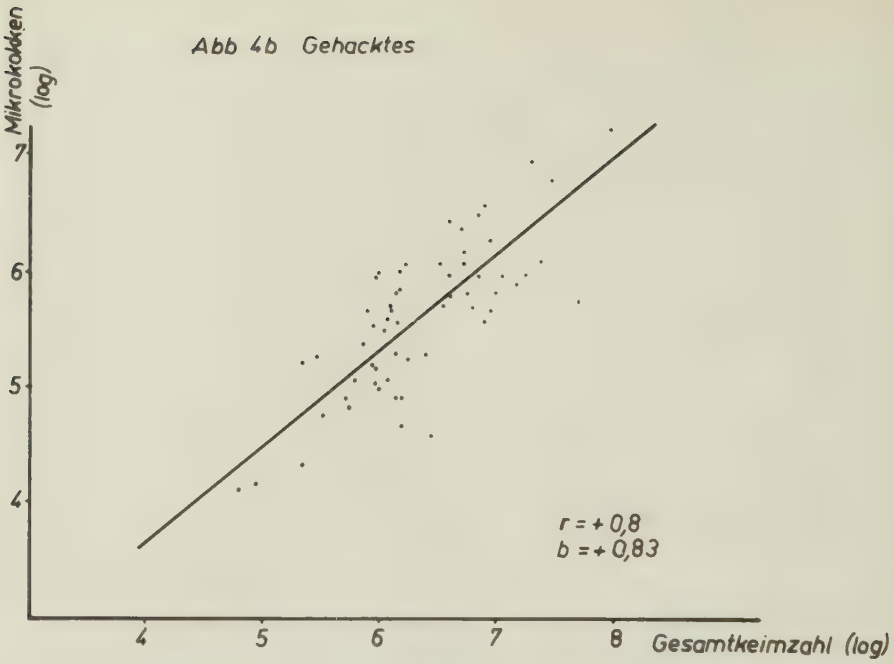
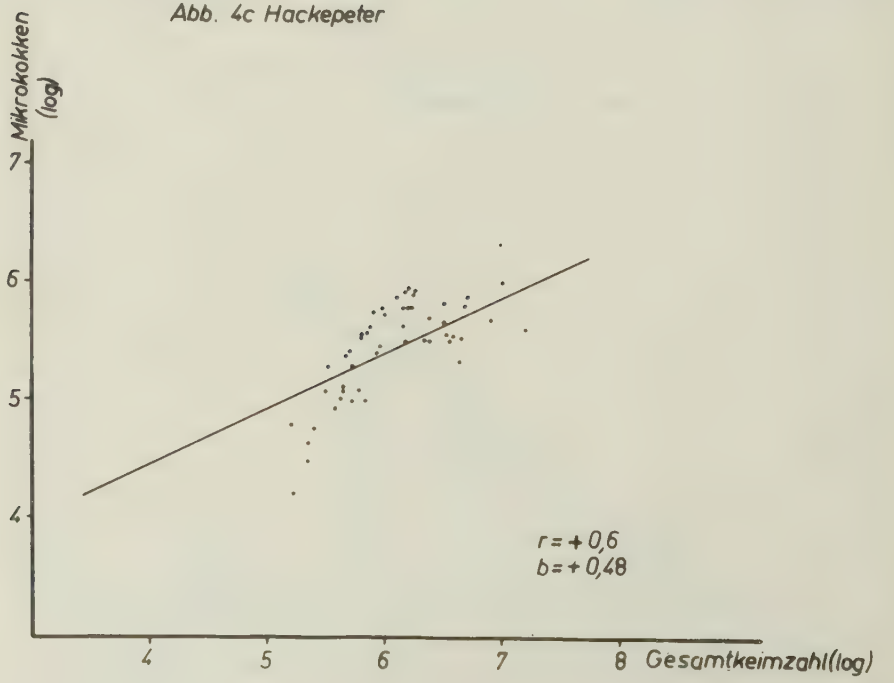


Abb. 4c Hackepeter



Am Schluß meiner Arbeit möchte ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Hans-Jürgen Sinell für die freundliche Überlassung des Themas sowie das jederzeit entgegengebrachte Interesse und die zahlreichen Anregungen herzlich danken.
Mein Dank gilt ferner Herrn Dr. Jürgen Baumgart und allen übrigen Mitarbeitern des Institutes, die mir ihre Unterstützung zuteil werden ließen, ebenso wie der Deutschen Forschungsgemeinschaft, durch deren finanzielle Unterstützung die Durchführung der Versuche ermöglicht wurde.

LEBENSLAUF

Ich, Doris Kusch, wurde am 28. Juni 1943 in Berlin-Schöneberg als Tochter des Justizsekretärs Erwin Kusch und seiner Ehefrau Lydia, geb. Schimohr geboren. Vom September 1949 bis März 1955 besuchte ich die 7. Grundschule in Berlin-Schöneberg. Seit 1955 besuchte ich die Askanische Oberschule in Berlin-Tempelhof, an der ich im März 1962 die Reifeprüfung ablegte.
Im Sommersemester 1962 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin. Nach dem Wintersemester 1963/64 legte ich dort das Physikum ab und beendete das Staatsexamen im Sommersemester 1967. Zur Zeit leiste ich mein Veterinärpraktikum bei Herrn Dr. Merzdorf in Ettenbüttel Kreis Gifhorn ab.